REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA

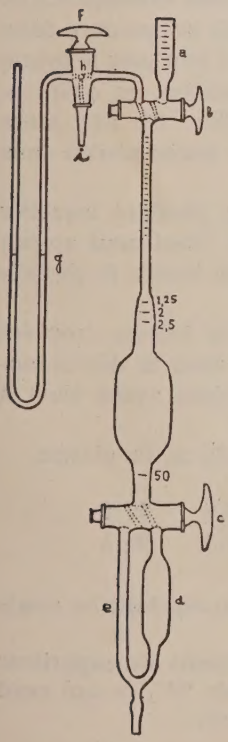
VOLUME I DEZEMBRO, 1941 NÚMERO 4

SUR UNE MODIFICATION DE L'APPAREIL DE VAN SLYKE PERMETTANT LA LECTURE IMMEDIATE DES VOLUMES GAZEUX À LA PRESSION ATMOSPHERIQUE [1]

H. MOUSSATCHÉ

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Avec 1 figure)



La lecture à la pression atmosphérique des volumes de gaz dégagé dans les analyses faites avec l'appareil volumetrique de VAN SLYKE n'est pas toujours facile. D'après les conseils de l'auteur lui-même (1), après avoir réalisé l'extraction complète du gaz contenu dans le liquide soumis à l'examen, on fait passer le volume du liquide dans le réservoir *"d"* (fig. 1) et on fait remonter le mercure à travers le tube lateral *"e"* jusqu'à réduire la masse de gaz à la pression atmosphèrique. Mais, en réalité, il n'est pas facile de faire passer toute la masse liquide dans le reservoir *"d"*; il reste toujours un certain volume dans la chambre d'extraction. On doit donc mantenir le réservoir mobile de mercure à une hauteur telle que le niveau libre surpasse le niveau dans la chambre de 1/13 environ de la hauteur du liquide qui est sur le mercure, manoeuvre que l'on arrive à faire, en practique, avec une precision suffisante.

Il nous a semblé, cependant, que cette technique n'est pas très sûre. Les oscillations du tube en caoutchouc qui relie le réservoir de mercure à l'appareil, l'existence des menisques de mercure, et, dans certains appareils, la distance entre les deux surfaces à comparer, étant donnée l'existence d'une manche d'eau qui entoure la chambre d'extraction, rendent la technique difficile. De petites erreurs

[1] Reçu le 31 Juillet 1941.
Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Institut Oswaldo Cruz.

dans l'appréciation des niveaux de mercure pourront donner lieu à des erreurs déjà considérables, a cause de la différence des densités.

La technique que nous proposons est basée sur l'emploi d'un manomètre à eau adapté à l'appareil et pouvant être mis en communication avec la chambre d'extraction au moment voulu. Le manomètre pourra être une pièce simple et accessoire, fabriquée au laboratoire même et reliée à l'appareil par un tube de caoutchouc, ou être installé définitivement avec l'aide d'un robinet, comme on le voit dans la fig. 1. Ce robinet permet, par une de ses voies, de mettre le manomètre en communication directe avec la chambre d'extraction; l'autre voie, ayant ses extremités en *"h"* et *"i"* sert à etablir l'égalité des niveaux dans les deux branches du manomètre et aussi au lavage de l'appareil.

Avec ces dispositifs, une fois terminée l'extraction du gaz, on peut employer deux procedés différents: 1) on suit la méthode classique, en faisant passer le liquide dans le réservoir *"d"* et en faisant retourner le mercure par la branche *"e";* 2) ou laisser le liquide dans la chambre d'extraction. Dans l'un et l'autre cas, on fera immediatement l'operation de soumettre le volume gazeux à la pression atmosphérique pour realiser la lecture. Aprés avoir placé le réservoir de mercure dans une position telle que le niveau à son interieur soit à peu prés le même que celui qui l'ont trouve dans la chambre d'extraction, on ouvre la communication de cette chambre avec le manomètre. On agit alors avec le réservoir de manière à ramener le liquide au même niveau dans les deux branches du manomètre.

Cette operation est faite en quelques secondes, pendant lequelles la réabsorption du gaz par le liquide est négligible. Ceci nous amène à préférer la deuxième procèdé, puisqu'il devient ainsi inutile de recueillir le liquide dans le réservoir *"d"*.

Nous reproduisons ci-dessous quelques'unes des valeurs trouvées en pratiquant des examens par les deux procedés dans la détermination de la réserve alcaline du plasma de trois chiens ayant servi à d'autres expériences.

Réserve alcaline exprimée en Vol. de CO^2 par 100 cc. de plasma:

Première methode	39.0	32.4	37.2
Deuxième methode	39.0	32.4	38.1

Nous avons controlé plusieurs de nos résultats en répetant les essais avec un appareil manomètrique.

Les résultats ci-dessus exposés nous permettraient de supprimer dans les appareils nouveaux à construir le réservoir *"d"*, ce qui rend de beaucoup plus simple la construction de l'appareil.

Nous prions M. le Dr. G. G. Villela, du Laboratoire de Biochimie de l'Institut, de bien vouloir agréer l'expression de notre reconnaissance, pour ses conseils et pour l'aide donnée dans les travaux faites avec l'appareil manomètrique.

RESUMO

Foi apresentada uma modificação do aparelho volumétrico de VAN SLYKE para leitura à pressão atmosférica do volume de gás desprendido. A modificação consiste em adaptar um manômetro dagua ao aparelho e fazer a correção do volume gasoso por intermédio deste manômetro.

BIBLIOGRAPHIE

1. PETERS, J. P. & VAN SLYKE, D., 1932, Quantitative Clinical Chemistry. Vol. II, Methods. Baltimore.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 369-371
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SÔBRE UM NOVO "STICTOSOMUS (ANACANTHUS)" SERVILLE, 1832 (Col., Prioninae) [1]

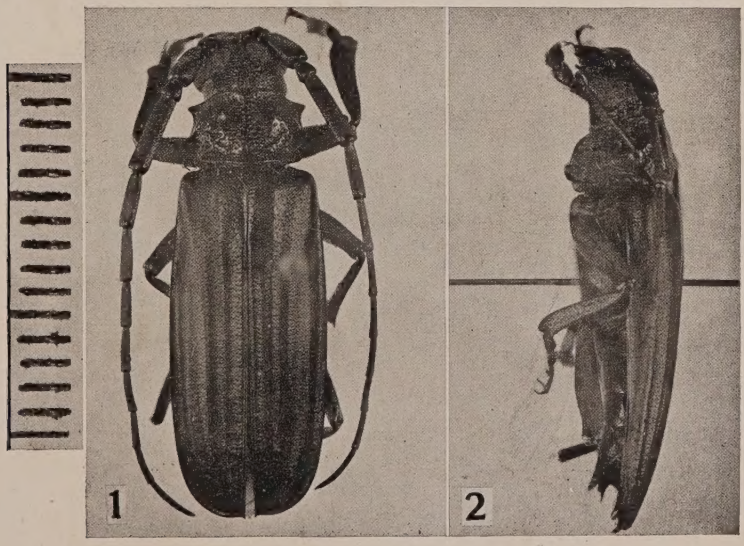
C. A. CAMPOS SEABRA

(Com 3 figuras no texto)

Procurando determinar alguns Prionídios do Espírito Santo, encontrámos uma espécie de *Stictosomus*, que, pelos seus caractéres nos parece nova, o que nos leva a descrevê-la.

Stictosomus (*Anacanthus*) *espiritosantensis* n. sp.

Macho — Côr preta; pernas e antenas de côr castanha, mais escura naquelas, perto da articulação, e nestas nos segmentos proximais, que são quase rufos como o resto do corpo.



Stictosomus espiritosantensis n. sp. — Fig. 1: visto de cima; fig. 2: visto de lado.

[1] Recebido para publicação a 2 de Agosto de 1941.

Cabeça na parte dorsal sem saliências notaveis. Gula rugo-granulosa, glabra. Mandíbulas pequenas, grossas, pontuadas, dorsalmente granulosas como a fronte; esta com sulco longitudinal mediano bem visivel, terminando na sutura clipeal. Vértice esparso e profundamente pontuado. Olhos transversais, com o seu bordo anterior não saliente e fracamente sinuoso. Distância entre os mesmos, em cima, menor que a largura de cada um visto de cima. Antenas compridas, excedendo parte do seu último artículo o ápice dos élitros. Primeiro artículo grosso, obcônico, irregularmente pontuado, atingindo o bordo anterior do protorax.

Protorax uma vez e meia mais largo que comprido, com dente agudo no meio dos bordos laterais. Ângulos anteriores proeminentes, agudos; os posteriores em ângulo obtuso. Pronoto fortemente pontuado em quase toda a sua extensão, exceto em duas áreas medianas, brilhantes e um pouco elevadas. Escutelo de ápice rombo, liso.

Fig. 3 — *Stictosomus espiritosantensis* n. sp., parte anterior do corpo, fortemente aumentado.

Élitros finamente pontuados e com ângulos suturo-apicais em dente agudo, cada um com três costelas pouco salientes. Pernas curtas e robustas, as anteriores fortemente granulosas, as intermediárias e posteriores finas, dispersamente pontuadas. Tarsos curtos e largos.

Região do metatorax distintamente pilosa. Abdômen dispersamente pontuado e glabro. Processo prosternal granuloso, fortemente encurvado entre os quadris anteriores, mesosterno estreito, não canaliculado.

Comprimento: 20,5 mm.; largura: 6,5 mm.
Holotipo: um macho, na nossa coleção.

Localidade do tipo: Matilde, Estado do Espírito Santo, Brasil. XI-1939, A. Maller col.

Esta espécie aproxima-se muito do *Stictosomus reticulatus*, dêle se diferenciando pelos seguintes caractéres: 1.º, antenas mais longas, sobrepassando os élitros; 2.º, primeiro artículo da antena mais longo, excedendo o bordo posterior dos olhos; 3.º, gula glabra; 4.º, distância entre os olhos em cima, menor que a largura de cada olho visto de cima; 5.º, processo prosternal com superfície granulosa, fortemente encurvado entre os quadris anteriores (em *reticulatus*, de superfície lisa e plana em relação com o resto do prosterno); 6.º, região do metatorax distintamente pilosa.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 373-378
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

QUATRO NOVOS TINGITÍDEOS DA AMÉRICA DO SUL [1]

OSCAR MONTE
Instituto Biológico, S. Paulo

(Com 3 figuras no texto)

No presente trabalho são descritas quatro novas espécies de tingitídeos, das quais três são do Brasil e uma da Bolívia. Os tipos e paratipos estão na coleção particular do autor.

Sphaerocysta angulata n. sp.
(Fig. 1)

Colorido geral amarelado; a vesícula e o disco do pronoto, castanhos; uma pequena mancha preta sôbre cada elevação túmida.

Cabeça com dois espinhos curtos, os tubérculos anteníferos distintos. Antenas estreitas, longas e amareladas, salvo o IV segmento, que é preto, peludo e de base clara. O I segmento duas vezes o II; o III quatro vezes o IV; o IV igual em comprimento aos dois primeiros reunidos. Rostro castanho, com o ápice escuro, curto, alcançando a base do metasterno; abertura rostral muito larga. Búcula curta.

Pronoto liso, brilhante, castanho, pouco elevado, distintamente pontuado. Paranotos estreitos, reflexos, levemente mais alargados na frente do que no meio e na extremidade humeral anguloso, com aréolas punctiformes da metade para a parte angulosa; tricarenado; as carenas laterais elevadas sôbre o disco e muito baixas para a porção tringular, punctiformemente areoladas; a mediana apenas distinta, quase obsoleta sôbre o disco e mui levemente elevada na porção posterior. Vesícula bem desenvolvida, relativamente grande para o tamanho do inseto, subglobosa, pontuada; as duas grandes células estão colocadas em baixo, quase ao nível do pronoto.

Élitros alongados, mais largos na fêmea que no macho; arredondados atrás, bem mais longos que o abdômen; área costal larga, uniseriada, as aréolas largas e separadas por grossas nervuras, das quais as que se acham na metade anterior são levemente escurecidas; subcostal na maior parte triseriada; discoidal distinta e com quatro carreiras de aréolas na sua maior largura; elevação túmida pequena, manchada de preto.

Patas amarelo-claras, com os tarsos levemente escurecidos.

Comprimento: 2,32 mm.; largura: 1 mm.

Holotipo ♂ e alotipo ♀ e 12 paratipos, Chavantes, S. Paulo, 13-V-41, colhidos pelo autor em uma bignoniácea trepadeira.

---

[1] Recebido para publicação a 15 de Agosto de 1941.

O tamanho, o formato do paranoto, a disposição da carena mediana, distingue *Sphaerocysta angulata* de todas as suas congêneres.

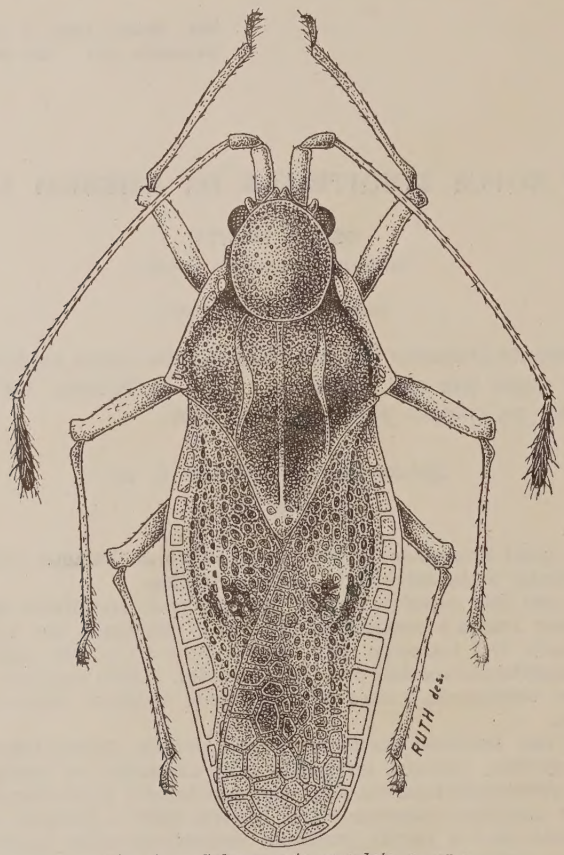


Fig. 1 — *Sphaerocysta angulata* n. sp.

Gargaphia comosa n. sp.
(Fig. 2)

Amarelada; corpo coberto de pêlos abundantes; 4-5 nervuras escuras transversais na área costal.

Cabeça escura com cinco espinhos mais ou menos longos e delicados; o mediano erecto; o par posterior dirigido para fora e o anterior que é o mais curto, alcançando a metade do primeiro segmento antenal. Antenas delgadas e amareladas, o IV segmento escuro; o I duas e meia vezes maior que o II; o III cêrca de três vezes o comprimento do IV. Rostro castanho, com a extremidade escura, alcançando a lâmina rostral.

Pronoto levemente convexo, castanho escuro, coberto com leve pubescência, reticulado na porção triangular; tricarenado, as carenas foliáceas com uma carreira de largas aréolas; as laterais levemente constrictas no meio. Paranotos estreitos, angularmente dilatados atrás, quase totalmente biseriados, mas tri-

seriados junto ao ângulo. Vesícula pequena, um tanto achatada na parte superior e bem mais larga na anterior.

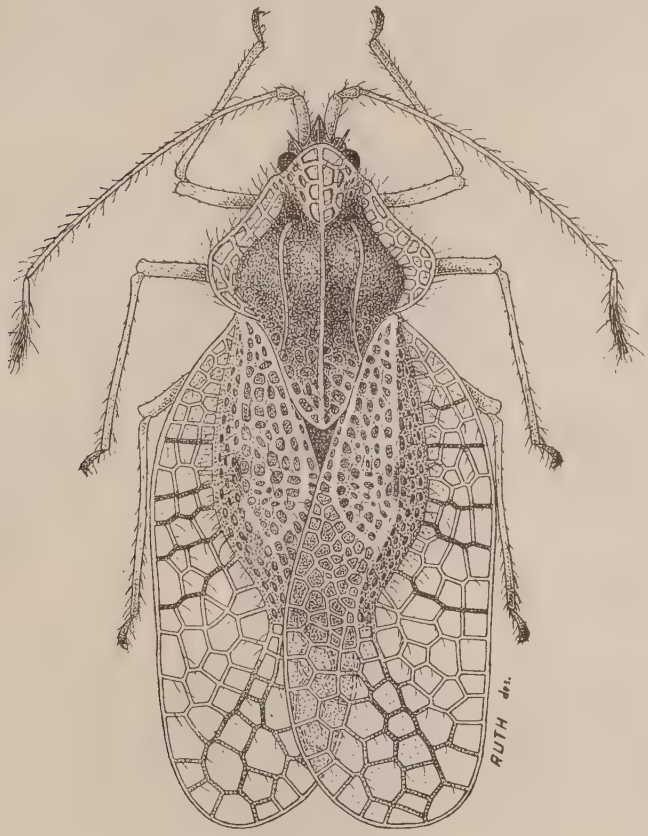


Fig. 2 — *Gargaphia comosa* n. sp.

Élitros largos, com os ápices levemente separados; área costal bi-, tri- e depois quadriseriada, com 4-5 nervuras escuras transversais; subcostal triseriada; a discoidal larga, piriforme, com 5 carreiras de aréolas na sua maior largura, e quase junto ao ápice, na nervura que limita a discoidal e a sutural, manchada de castanho-escuro; as nervuras da sutural levemente enfuscadas.

Patas amareladas com os tarsos escuros. Parte inferior do corpo totalmente castanho-escura.

Comprimento: 3,69 mm.; largura: 1,82 mm.

Holotipo ♂ e alotipo ♀ e um paratipo, de Catanduva, S. Paulo, 19-VIII-40, colhidos pelo autor.

Semelhante à *G. dissortis* Drake, mas dela se diferencia pela área costal mais larga e por ter as margens externas retas, a vesícula maior, subcostal mais alta, paranotos mais estreitos e mais reflexos.

Teleonemia simillima n. sp.
(Fig. 3)

Alongada, um pouco alargada para trás, escura, exceção feita aos espinhos da cabeça, colo, parte anterior dos paranotos, vesícula, porção triangular do pronoto e área costal, que são amarelados.

Fig. 3 — *Teleonemia simillima* n. sp.

Cabeça com cinco espinhos, dos quais os dois anteriores e o mediano são curtos e grossos e os dois posteriores alongados; o par anterior é levemente curvado para dentro e suas extremidades se tocam; o par posterior descança sôbre a superfície da cabeça. Antenas longas, moderadamente grossas, cobertas com densa pelagem, especialmente no III segmento; o I segmento um pouco mais grosso e maior do que o II; o III três vezes maior que o IV. Rostro longo,

alcançando o metasterno. Búcula escura e profunda, alargando-se posteriormente.

Pronoto pontuado; tricarenado, as carenas um pouco levantadas, compostas de uma só carreira de pequenas aréolas, as laterais convergindo posteriormente e a mediana de um colorido amarelado nas suas extremidades, ao passo que é escura no disco. Vesícula proeminente, de forma semelhante a de *T. albomarginata* Champion, um pouco mais baixa e lançada para frente; paranotos na frente bastante reflexos e uniseriados, posteriormente ligados ao pronoto.

Élitros longos, ovalados, alargando-se levemente para o ápice o qual é arredondado; a área costal quase reta, anteriormente reflexa e largamente uniseriada, depois biseriada na sua maior largura; subcostal biseriada; discoidal larga, com 4 carreiras de aréolas na sua maior largura e com a nervura que a limita com a subcostal bem saliente; esta área está nitidamente fechada; uma larga faixa escura no ápice dos élitros.

Patas longas e pretas.

Comprimento: 3,91 mm.; largura: 1,17 mm.

Holotipo ♂, de Puerto America, rio Putumayo, 2-IX-1920.

A espécie é bastante semelhante à *T. albomarginata* Champion e suas congêneres, das quais se afasta pelo menor tamanho e área costal muito estreitada. Parece muito próxima de *T. amazonica* Horváth, mas dela pode se distinguir pela área costal anteriormente uniseriada e depois biseriada.

Teleonemia inornata n. sp.

Alongada, com os élitros alargados, com algumas nervuras escuras ou ferrugíneas; escura.

Espinhos da cabeça grossos e amarelados; o par anterior curto e curvado para dentro; o posterior longo, descançando sôbre a superfície da cabeça quase alcançando a base do par anterior; o espinho mediano bastante grosso e curvado para baixo. Antenas muito longas, grossas e cobertas com pêlos densos e curtos; o I segmento mais grosso e levemente maior que o II; o III longo, cinco vezes maior que o IV; este de comprimento igual à soma dos dois primieros. Rostro longo quase alcançando o I segmento abdominal; abertura rostral larga atrás.

Pronoto fortemente convexo, pontuado, coberto com densa secreção esbranquiçada, que envolve quase toda a vesícula e extende-se para a parte pro-esternal; tricarenado; carenas altas, uniseriadas, com aréolas pequenas; as carenas laterais bem constrictas no meio e levemente curvadas para dentro; os paranotos estreitos, na frente reflexos, uniseriados, mais alargados na frente do que atrás, unindo-se ao pronoto na parte humeral. Vesícula muito alta, quase globosa.

Élitros largos e escuros, as nervuras fuscas, somente a área costal mais clara. A área costal é uniseriada até ao meio, com as aréolas largas, depois biseriada e com as aréolas irregularmente dispostas; a subcostal largamente biseriada; a discoidal larga, com cinco carreiras de aréolas na sua parte mais larga.

Patas ferrugíneas.

Comprimento: 4,56 mm.; largura: 1,56 mm.

Holotipo ♂ e alotipo ♀, colhidos pelo Dr. Pedro Denier, em Caranavi, Coroico, Nor Yungas, e dois paratipos de Sur Yungas, Chulumani, Bolivia, em III-1931.

Muito próxima de *T. brevipennis* Champion, mas diferenciando-se dela pela vesícula muito alta; o paranoto mais largo; as carenas mais salientes. A vesícula muito alta distingue esta espécie de todas as suas congêneres.

ABSTRACT

FOUR NEW SOUTH AMERICAN TINGITIDAE

This paper contains the descriptions of four new South American species of *Tingitidae*. Of these species three occur in Brazil and one in Bolivia. The types and paratypes are in the Author's Collection.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 379-381
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

DA RELAÇÃO ENTRE O CORANTE DOS VENENOS DE COBRA E SUA FLUORESCÊNCIA (Nota prévia) [1]

ARMANDO RODRIGUES TABORDA e LAURA COMETTE TABORDA
Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil

Os autores verificaram pela primeira vez que os venenos das seguintes cobras, apresentavam fluorescência:

Crotalus terrificus terrificus	Azul
Bothrops itapetiningae	"
Elaps frontalis	"
Bothrops jararaca	Amarela
B. jararacussú	"
B. alternatus	"
B. neuwidii	"
B. atrox	"
B. cotiara	"
Lachesis mutus	"
Ancistrodon pescivorus	"
Crotalus americanas (mistura?)	"

Trataram todos êstes venenos em solução 1 % por 13 volumes de uma mistura de metanol e água na proporção de 3:1, incubaram por 36 horas em estufa a 38°C.

Após centrifugação observaram que o corante havia sido extraído no líquido sobrenadante que apresentava a mesma fluorescência que o veneno seco.

Relacionando êste fato com a presença de flavina como responsavel pela coloração amarela comum à maioria dos venenos, realizaram "tests" característicos das flavinas com a fração corante extraída do veneno de *Bothrops jararaca* "in natura" em paralelo com a riboflavina Merck (vitamina B_2).

Constataram a sua perfeita solubilidade na água e insolubilidade em clorofórmio, a sua adsorção em franconita e terra Fuller e eluição com as misturas de piridina, álcool etílico ou metílico e água

[1] Recebido para publicação a 18 de Agosto de 1941.
O trabalho integral foi apresentado ao 1° Congresso da Associação Química do Brasil realizado em São Paulo de 21 a 26 de Julho de 1941.

(1 + 1 + 2); a fluorescência verde amarelada característica das flavinas entre os pH 3 e 9, a sua resistência aos oxidantes e redutores tais como hidrosúlfito de sódio, zinco, estanho, iodo, formol, etc.

Por irradiação sob lâmpada de filamento metálico de 600 w. de sua solução alcalina da flavina do veneno obtiveram o foto-derivado — a lumiflavina soluvel em clorofórmio, e, mais ainda, a formação da uréia por destruição desta lumiflavina pelo hidróxido de bário a quente, o que foi verificado pelo "test" de WELTMANN-BARRENSCHEEN.

O espectro de absorção da flavina do veneno apresentou tal como a riboflavina Merck, os máximos em 220, 270, 365 e 445 mμ.

Todas estas características permitiram aos autores identificar a fração corante e fluorescente do veneno da *Bothrops jararaca,* como uma flavina.

Foi feita ainda a dosagem fluorométrica pelo fotômetro de Pulfrich adaptado a uma lâmpada de raios ultra-violeta de Hanau, encontrando-se em média 50 microgramas de flavina por mL de veneno "in natura" ou seja 250 microgramas, por grama de veneno seco.

ABSTRACT

ON THE RELATIONSHIP BETWEEN SNAKE VENOM DYE AND ITS FLUORESCENCE

The authors established for the first time that the venoms of the following snakes show fluorescence:

Crotalus terrificus terrificus	Blue
Bothrops itapetiningae	"
Elaps frontalis	"
Bothrops jararaca	Yellow
B. jararacussú	"
B. alternatus	"
B. neuwidii	"
B. atrox	"
B. cotiara	"
Lachesis mutus	"
Ancistrodon pescivorus	"
American *Crotalus* (mixture ?)	"

Those venoms were treated in 1 % solution with 13 volumes of a mixture of methanol and water at 3:1, and incubated at 38°C, for 36 hours.

After centrifugation it was observed that the dye had been extracted in the supernatant that showed the same fluorescence as the dry venom.

Connecting this fact with the presence of flavin as responsible for the yellow coloration common to most venoms, the authors performed the caracteristic flavin tests with the dyeing fraction extracted from the venom of *Bothrops jararaca* "in natura", against riboflavin Merck (vitamin B_2).

The following characteristics could be established: Perfect solubility in water and insolubility in chloroform; adsorption in frankonit and Fuller earth, and elution in mixtures of piridin, ethyl or methyl alcohol and water (1 + 1 + 2); the green yellowish fluorescence peculiar to flavins between pH 3 and 9; resistance to oxidants and reductors such as sodium hydrosulfide, zinc, tin, iodine, formol, etc.

By means of irradiation of the alcaline solution under metallic filament lamp of 600 w., was obtained the photoderivate of the venom flavin, — the

lumiflavin, soluble in chloroform and, withal, the formation of urea by destruction of this lumiflavin by heating with barium hydroxide which has been established by the Weltmann-Barrenscheen test.

The absorption spectrum of the venom flavin showed, like the riboflavin Merck, maximals at 220, 270, 365 and 445 mμ.

The characters enabled the authors to identify the dyeing and fluorescenting fractions of the *Bothrops jararaca* venom as a flavin.

The fluorometric determination was done also, by the Pulfrich photometer adapted to ultraviolet rays lamp of Hanau. An average of 50 micrograms of flavin per mL of venom "in natura" was found, i.e. 250 micrograms per gram of dry venom.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 383-386
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SÔBRE OS FILARIDEOS PARASITOS DE LACERTÍDEOS NEOTRÓPICOS [1]

HERMAN LENT e J. F. TEIXEIRA DE FREITAS
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 10 figuras no texto)

Entre os filarídeos que parasitam lacertídeos neotrópicos encontramos, na literatura, referência à 3 espécies, *Filaria multipapilla* Molin, 1858; *Filaria Podinemae sciptae* Molin, 1858; e *Oswaldofilaria brevicaudata* (Rhodain & Vuylsteke, 1937) Freitas & Lent, 1937.

Filaria multipapilla é espécie conhecida sòmente pela descrição original de Molin e parasita da cavidade e parede abdominais de *Dracaena guianensis* Daudin, 1802 (= *Thorictis dracaena* Wagler). Não tendo sido reestudada recentemente é impossivel saber a que gênero pode pertencer.

Filaria Podinemae sciptae é um nome nú creado por Molin em 1858 para um filarídeo da cavidade abdominal de *Podinema scipta* Fitzinger, segundo Molin.

Oswaldofilaria brevicaudata é parasito da cavidade abdominal de *Iguana iguana* (L.) e foi estudado com detalhe por Freitas & Lent, em 1937.

Neste trabalho que agora publicamos, descrevemos um filarídeo capturado na cavidade abdominal de um calango indeterminado autopsiado na localidade de Piratuba, no Estado do Pará, Brasil, que constitue um novo gênero.

Desejamos salientar que a sistemática dos *Filarioidea* se apresenta, no momento, com um aspecto confuso que nos leva a colocar este gênero na família *Filariidae* sem precisar a sub-família a que pertence. Poderemos ter a impressão exata do que acabamos de dizer, examinando as diferentes classificações propostas, tais como as de Yorke & Maplestone (1926), Baylis & Daubney (1926), Wehr (1935), Skrjabin & Schikhobalova (1936), e Chitwood & Chitwood (1937).

---

[1] Recebido para publicação a 15 de Setembro de 1941.
Trabalho do Laboratório de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz.

Piratuba n. g.

Filariidae. Corpo com cutícula estriada longitudinalmente. Bôca simples. Cápsula bucal rudimentar. Esôfago dividido em duas partes, uma anterior e muscular e outra posterior e glandular. Fêmeas anfidelfas, com vulva situada no meio do corpo e ovijetor longo, com cauda digitiforme; vivíparas. Machos com extremidade posterior digitiforme, com 10 a 11 pares de papilas, sem gubernáculo e bossas ventrais e com espículos iguais, não filiformes. Parasitos de répteis.

Espécie tipo — *Piratuba digiticauda* n. sp.

Piratuba digiticauda n. sp.
(Figs. 1-10)

Comprimento — Machos 12,06 a 13,23 mm.; fêmeas 19,56 a 22,44 mm.

Largura — Machos 0,20 a 0,23 mm.; fêmeas 0,33 a 0,37 mm.

Corpo com cutícula estriada longitudinalmente e com as extremidades fracamente atenuadas. Extremidade anterior com 8 papilas cefálicas, assim distribuidas: duas látero-ventrais, duas látero-dorsais e 4 laterais. Cápsula bucal rudimentar, mais nítida nas fêmeas. Esôfago dividido em duas partes, uma anterior e muscular e outra posterior e glândular; mede 0,95 mm. de comprimento nos machos e 0,96 a 1,13 mm. nas fêmeas, sendo 0,28 a 0,35 mm. para a porção anterior naqueles e 0,30 a 0,40 mm. nestas, e separado do intestino por 3 válvulas conspícuas. Intestino mais ou menos retilíneo. Anel nervoso situado a 0,25 a 0,31 mm. da extremidade anterior nos machos e 0,25 a 0,28 mm. nas fêmeas. Poro excretor e papilas cervicais não evidenciados.

Fêmeas anfidelfas, vivíparas, com vulva muito pequena, situada numa pequena saliência do meio do corpo, distante 9,21 a 10,79 mm. da extremidade anterior. Ovijetor longo, inicialmente dirigido para diante. Úteros longos, tubulares, repletos de microfilárias, pregueados e sinuosos, ocupando quase totalmente a cavidade do corpo, podendo atingir, o anterior a primeira porção esofagiana, e o posterior a região post-anal. Ovário anterior situado na região do esôfago; ovário posterior situado no terço posterior do corpo. Anus situado a 0,40 mm. da extremidade posterior, que é digitiforme. Em alguns exemplares as aberturas vulvar e anal, não são evidenciaveis, parecendo atrofiadas.

Machos com espículos iguais, curtos, não filiformes, medindo 0,157 a 0,174 mm. de comprimento. Gubernáculo ausente. Cauda desprovida de bossas ventrais e levemente curvada ventralmente. Abertura anal situada a 0,13 a 0,14 mm. do ápice caudal, que é arredondado. Papilas caudais presentes, em número de 10 a 11 pares, dos quais 5 pre-anais e 5 ou 6 post-anais; destes, 3 pares ficam situados logo atrás da abertura anal e 2 outros próximos ao ápice caudal. Quando o número de papilas post-anais é de 6 pares, existe um par situado entre os dois grupos acima referidos. Tubo genital dirigido para diante. Cloaca, canal ejaculador e canal deferente nítidos, retilíneos. Testículo dobrado em U antes do fim do esôfago, formando ainda, antes de terminar, uma ou duas curvaturas em U.

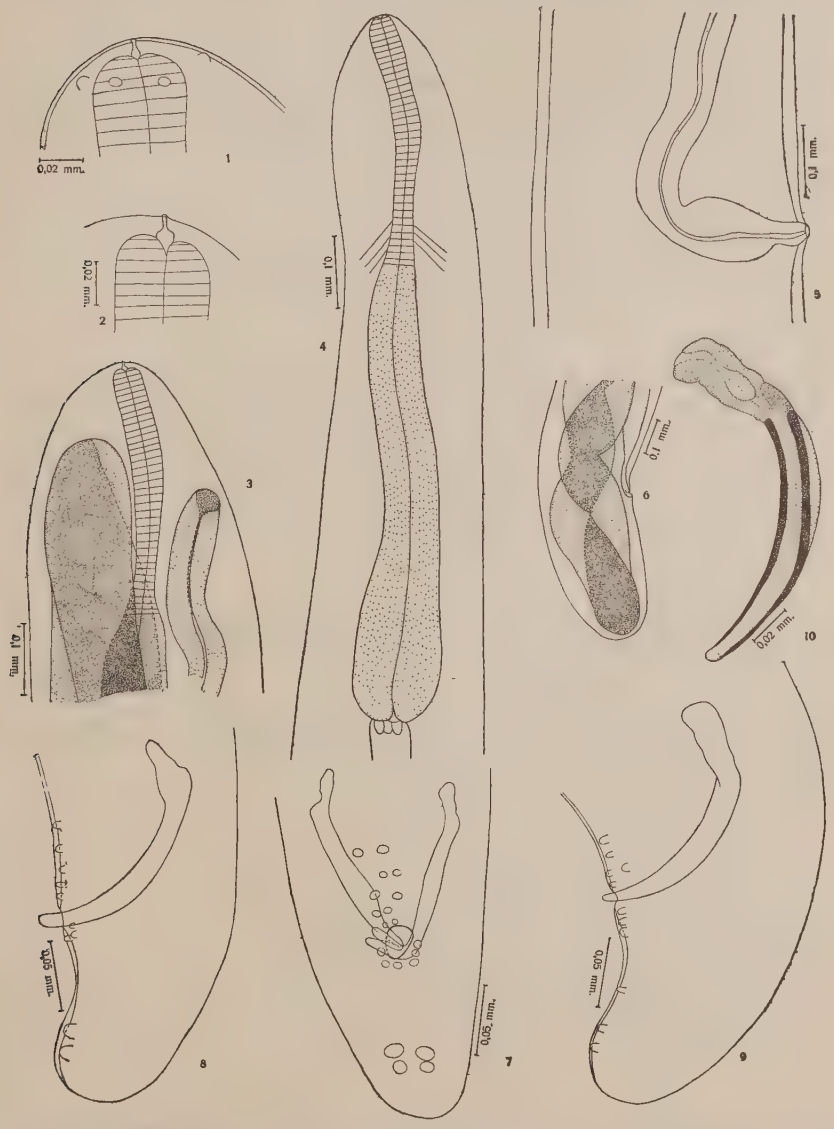
Habitat — Cavidade abdominal de calango indeterminado (*Lacertilia*).

Proveniência — Piratuba, Estado do Pará, Brasil.

Tipos e paratipos na coleção helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz.

Examinamos 4 machos, sendo um fragmentado e 5 fêmeas, colecionados pelo Dr. Geth Jansen, no Serviço de Estudos das Grandes Endemias, tendo sido uma destas dissecada. Dos primeiros, só um exemplar apresentava 6 pares de papilas post-anais.

Este filarídeo se aproxima de *Micropleura* Linstow, 1906 pela estrutura do esôfago e posição da vulva, porém se afasta pela disposição dos úteros, que não são saccíformes, pela formação de microfilárias e não de larvas, pela cauda da fêmea que é obtusa e não cônica, pela au-



Piratuba digiticauda n.g., n.sp. — Fig. 1: Extremidade cefálica do macho; fig. 2: extremidade cefálica da fêmea, não tendo sido representadas as papilas cefálicas; fig. 3: extremidade anterior da fêmea; fig. 4: extremidade anterior do macho; fig. 5: vulva e início do ovijector; fig. 6: extremidade posterior da fêmea; fig. 7: cauda do macho, de face; fig. 8: cauda do macho, de perfil; fig. 9: cauda do macho, de perfil; fig. 10: espículo.

sência de bossas cuticulares na cauda dos machos, pela disposição das papilas caudais dos machos, pelos espículos não filiformes, porém relativamente grossos e, ainda, pela ausência de gubernáculo. E' muito próximo de *Conispiculum* Pandit, Pandit & Iyer, 1929, dêle se distinguindo pela ausência de papilas caudais na fêmea e pela presença de papilas pre-anais no macho. BAYLIS (1939) diz não ser o esôfago em *Conispiculum* dividido em duas porções estruturalmente diferentes, donde a sua inclusão em *Aproctinae;* entretanto, o novo gênero agora proposto, muito próximo de *Conispiculum,* apresenta o esôfago nitidamente dividido em uma região anterior, muscular e outra posterior, glandular.

De *Oswaldofilaria* Travassos, 1933, aproxima-se pela posição da vulva, porém logo se distingue pelos espículos e pela conformação do esôfago.

O aspecto dos espículos, curtos e iguais, faz lembrar, ainda, *Aprocta* Linstow, 1883, com o qual, no entanto, não se confunde, principalmente pelo esôfago.

Vemos, pois, que *Piratuba* n. g. apresenta pontos de contacto com vários gêneros incluidos, no momento, em grupamentos diversos. Assim, a estrutura do esôfago e a posição da vulva lembram *Micropleura* (*Philometroidea*); os espículos e a posição da vulva lembram *Conispiculum* (*Aproctinae*); a posição da vulva lembra *Oswaldofilaria* (*Filariinae*); os espículos lembram *Aprocta* (*Aproctinae*).

BIBLIOGRAFIA

BAYLIS, H. A., 1939, *The Fauna of British India.* Nematoda, vol. 2 (Filarioidea, Dioctophymoidea and Trichinelloidea). XXVIII + 274 pp., 150 figs., London.

BAYLIS, H. A. & DAUBNEY, R., 1926, *A Synopsis of the Families and Genera of Nematoda,* XXXVI + 277 pp., London.

CHITWOOD, B. G. & CHITWOOD, M. B., 1937, *An Introduction to Nematology,* Sec. I. Part I, 53 pp., 53 figs., Baltimore.

FREITAS, J. F. T. & LENT, H., 1937, Sobre *Oswaldofilaria brevicaudata* (Rhodain & Vuylsteke, 1937) n. comb. (Nematoda, Filarioidea), *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 32 (3): 439-442, 2 ests., 10 figs.

MOLIN, R., 1858, Versuch einer Monographie der Filarien. *S. B. Kaiserl. Akad. Wiss., math.-naturw. Cl.,* 28 (5): 365-461, ests. 1-2.

PANDIT, C. G., PANDIT, S. R. & IYER, P. V. S., 1929, A new filarid in *Calotes versicolor — Conispiculum guindiensis,* n. g., n. sp. *Ind. J. Med. Res.,* 16 (4): 954-958, pls. 78-79, 8 figs.

SKRJABIN, K.-J. & SCHIKHOBALOVA, N.-P., 1936, Contribution au remaniement de la classification des nématodes de l'ordre des *Filariata* Skrjabin 1915. *Ann. Parasit. hum. comp.,* 14 (1): 61-75.

TRAVASSOS, L., 1933, Sobre os filarideos dos crocodilos sul-americanos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* 27 (2): 159-164, ests. 31-34, figs. 1-15.

WEHR, E. E., 1935, A revised classification of the nematode superfamily *Filarioidea. Proc. Helm. Soc. Wash.,* 2 (2): 84-88.

YORKE, W. & MAPLESTONE, P A., 1926, *The Nematoda Parasites of Vertebrates,* 536 pp., 307 figs., London.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 387-392
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

BIOQUÍMICA DO SANGUE DO CRUSTÁCEO "UCA MARACOANI"

II. Nitrogênio total e não protídico, cálcio dialisavel, colesterol e índice de côr [1]

GILBERTO G. VILLELA e LEJEUNE P. H. DE OLIVEIRA
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com uma figura no texto)

Os trabalhos referentes à composição química do sangue dos crustáceos têm mostrado que a percentagem de nitrogênio total é bastante variavel, bem que a relação entre as diversas frações nitrogenadas se apresente relativamente constante para cada animal. DELAUNAY encontrou para os crustáceos *Maja squinado* e *Cancer pagurus* os valores de 546 e 907 mg. para o N-total, sendo de 530 a 887 mg. para o N-protídico e 16 a 20 mg. para o N-restante (valores para 100 cc. de sangue). BAGLIONI, tambem no sangue de *Maja squinado,* achou o N-restante variando de 16 a 20 mg. para 100 cc. e BOTAZZI os valores médios de 527 a 661 mg. de N-não protídico do sangue de algumas espécies de crustáceos (1).

As nossas determinações foram feitas no plasma centrifugado e mostraram uma variação bastante acentuada tanto para o N-total como para o N-não protídico. Na tabela I encontram-se os valores obtidos em 6 casos.

TABELA I

	mg. para 100 cc. de plasma		
N.º	*N-total*	*N-protídico*	*N-não protídico*
1	500	483	16,8
2	612	587	25,1
3	835	707	28,3
4	514	478	36,5
5	831	791	40,1
6	930	886	44,6

[1] Recebido para publicação a 16 de Setembro de 1941.

A fração não protídica é rica em amino-ácidos com núcleo fenólico conforme indica a reação intensa que se observa pelo emprego do reativo de FOLIN-CIOCALTEU.

A determinação fotométrica da tirosina no filtrado (desproteinização pelo método de FOLIN e WU) forneceu-nos de 65 a 100 mg. para 100 cc. calculando em tirosina. A mesma dosagem sendo feita no filtrado triclorácetico acusou valores muito mais elevados. Este fato mostra que além da tirosina livre (e de substâncias capazes de reagirem com o reativo fenólico) existem polipeptídeos, se admitirmos que o ácido triclorácetico a 20 % deixa passar os polipeptídeos. Em nossos casos o filtrado triclorácetico mostrou-se sempre mais rico em substâncias reagindo com o reativo fenólico do que os filtrados túngstico e fosfotúngstico (Tabela II).

TABELA II

INTENSIDADE DE CÔR MEDIDA NO FOTÔMETRO E EXPRESSA EM EXTINÇÃO (E)

Filtrado triclorácetico	0,90
Filtrado túngstico (Folin-Wu)	0,37
Filtrado fosfotúngstico	0,12

No sangue de outros crustáceos (*Palinurus vulgaris, Cancer pagurus*) os valores publicados giram em torno de 50 mg. de amino-ácidos para 100 cc. (PORA, DELAUNAY) (2). A concentração de amino-ácidos no plasma da *Uca* parece ser, portanto, bem mais elevada, apesar de referida em tirosina.

Quanto aos constituintes nitrogenados foi-nos possivel dosar a uréia que em 6 casos oscilou de 16,5 a 21,0 mg. para 100 cc. Os dados referidos na bibliografia são em geral baixos (de 1,8 a 6,5 mg. %) excéto para o *Palinurus argus* cuja análise revelou de 12 a 22 mg. % (SANZO) (2).

As nossas dosagens exprimem a uréia desde que foram feitas pela técnica da urease que é muito específica. Como houve em alguns casos uma demora entre a retirada do material e a dosagem é possivel que tenha havido hidrólise da fosfo-arginina e desdobramento desta pela arginase. Em todo o caso, os valores, mesmo considerando esta hipótese, são próximos de 20 mg. %. A reação de JAFFÉ praticada no filtrado triclorácetico foi levemente positiva o que faz supor a presença de creatinina. Aliás MYERS já havia assinalado a creatinina no sangue de algumas espécies de *Cancer*. Resta saber se se trata mesmo de creatinina ou de substâncias pertencendo ao mesmo grupo estrutural e que tambem dão a reação de JAFFÉ.

Cálcio dialisavel — A percentagem do cálcio total no plasma da *Uca* é muito elevada e já foi por nós mencionada em trabalho ante-

rior (3). Na presente nota procuramos estudar o estado em que se encontra o cálcio no plasma. A desproporção entre a quantidade de cálcio e de fósforo ácido soluvel no plasma faz supor que o *Ca* se encontra principalmente unido ao ácido carbônico, podendo deste modo melhor contribuir para a calcificação da carapaça.

Em quatro determinações feitas antes e depois da diálise com membrana de celofânio, pudemos verificar que cerca de 70 % do cálcio existente em circulação é dialisavel e portanto sob a forma livre ou dissociavel.

TABELA III

ESTADO DO CÁLCIO NO PLASMA

	Percentagem do total			
Cálcio dialisavel	75	72	67	69
Cálcio combinado (não dialisavel ..	25	28	33	31

A parte não dialisavel encontra-se provavelmente unida aos protídeos. Não nos foi contudo possivel estabelecer uma relação fixa entre os protídeos totais e o cálcio do plasma. Acreditamos que a maior parte do *Ca* não dialisavel esteja ligada à fração albumina que é a que existe em maior proporção e tem maior afinidade para o cálcio.

Colesterol — O colesterol foi dosado em poucos casos e os resultados são os que seguem:

	Colesterol em 100 cc. de plasma liquoidado
I	5,3 mg.
II	5,7
III	6,0
IV	6,2

Estes resultados se aproximam dos obtidos por MYERS no sangue de duas espécies de crustáceos (*Cancer productus* e *C. antennarius*).

Índice de côr — O sangue da *Uca* quando retirado do animal apresenta-se incolor, ou melhor, amarelo-alaranjado. Em contacto com o oxigênio do ar produz-se uma côr indo do azul ao azul violeta. O exame fotométrico por nós empreendido revelou uma curva de absorção com

duas zonas nítidas, uma entre 530 e 570 mμ e outra em 410 mμ. A curva de absorção é principalmente característica quando a hemocianina está saturada pelo O_2 (Fig. 1).

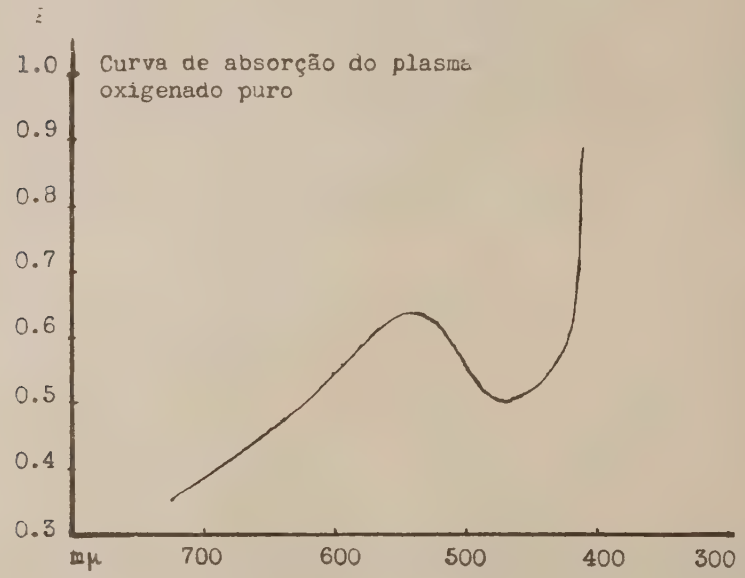


Fig. 1 — Curva de absorção fotométrica do plasma saturado pelo oxigênio atmosférico.

Além da hemocianina que confere a côr azul, existe um outro pigmento alaranjado que apresenta um máximo de absorção em 470 mμ. Quando o plasma fica em repouso, deposita-se este pigmento que é separado por centrifugação. Este pigmento é soluvel nos alcalis (soda N/5) e insoluvel nos solventes orgânicos. E' estavel em solução alcalina e não dá a reação dos carotenoides de Carr & Price com a solução saturada de Cl_3Sb nem a dos esterois de Liebermann-Burchard (anhidrido acético e ácido sulfúrico). Este pigmento parece corresponder à tetronoeritrina descrita por Halliburton em outros crustáceos.

A extração do plasma pelo clorofórmio, conforme recomenda Hogben (4), clarifica o plasma mas não retira o pigmento roseo acima descrito. Na interface clorofórmio-plasma encontra-se este pigmento que sendo removido por centrifugação permite a leitura da absorção fotométrica do plasma.

A curva de dissociação da oxi-hemocianina foi feita pela técnica singela de Pantin & Hogben (5), obtendo-se no pH de 7.6 e na temperatura de 26°,0, a saturação com a pressão parcial de O_2 de 60 mm. As leituras colorimétricas não puderam ser feitas satisfatoriamente no

fotômetro porque a transferência do plasma do tubo de THUNBERG para a cuba do fotômetro, mesmo rapidamente, modifica sensivelmente a côr. A comparação teve que ser feita com tubos padrões.

TÉCNICAS ADOTADAS

O plasma foi obtido por punção da articulação quelípodo-carpal com os cuidados já descritos por OLIVEIRA & MOREIRA (6). O anticoagulante foi o "liquoid" Roche a 1 % (3).

O nitrogênio foi dosado pelo método de KJELDAHL usando um micro-distilador com juntas esmerilhadas. A colheita do distilado foi feita em HCl 0,01 N e a titulação pela soda 0,01 N, sendo indicador o vermelho de metila. O N-não protídico foi determinado no filtrado tricloráceticó e representa portanto todas as frações nitrogenadas não precipitaveis pelo ácido tricloráceticó a 20 % (uréia, amino-ácidos, trimetilamina, etc.). Para a dosagem da tirosina nos filtrados túngsticos, tricloráceticó e fosfotúngstico usou-se a seguinte técnica:

Tomam-se 5 cc. do filtrado correspondendo a 1 cc. do plasma original, em balão de 10 cc. e juntam-se 2 cc. de soda 2N e 0,5 cc. do reativo de FOLIN-CIOCALTEU. Após o desenvolvimento da côr, completa-se o volume com água distilada. A leitura é feita no fotômetro gradual de PULFRICH com o filtro S 72 com a cuba de 10 mm.

A uréia foi determinada em 2 cc. do plasma. Empregou-se o aparelho de VAN SLYKE & CULLEN e para o desdobramento da uréia usou-se a urease ativa e diluida no dia da experiência. A amonia produzida foi recolhida em solução de HCl 0,01 N que se titulou pela soda 0,01 N com o indicador de PATTERSON (7).

Para o colesterol empregamos o desproteinizante alcool-eter (3:1) conforme a técnica clássica de BLOOR. O filtrado depois de evaporado e retomado pelo clorofórmio anhidro é tratado pelo anhidrido acético e ácido sulfúrico. A côr produzida é então lida no fotômetro de PULFRICH com o filtro S 61.

A diálise do plasma foi feita com membranas de celofânio impermeaveis às proteinas. A diálise dura em geral 12 horas na geladeira tendo como líquido externo uma solução de cloreto de sódio a 0,7 %. O cálcio foi dosado no mesmo plasma e depois da diálise, pela técnica descrita em nosso trabalho anterior (3).

A curva de absorção do plasma saturado pelo O_2 foi construida com os valores lidos no fotômetro de PULFRICH e referidos em extinção (E). Para o estudo da dissociação da oxi-hemocianina empregou-se a técnica simplificada de PANTIN & HOGBEN depois da extração do plasma pelo clorofórmio. O vácuo se fez em tubos de TUNBERG porque assim o manejo e o controle se tornam mais faceis.

ABSTRACT

BIOCHEMISTRY OF THE BLOOD OF THE CRAB "UCA MARACOANI". II. TOTAL NITROGEN AND NON-PROTEIN NITROGEN, DIFFUSIBLE CALCIUM, CHOLESTEROL AND COLOR INDEX

The chemistry of the blood of the crab "Uca maracoani" (Latreille, 1802) living in the bay of Rio de Janeiro was studied and the results may be summarized as follows:

	mg. per 100 ml
Total nitrogen	500 — 930
Non-protein nitrogen	16.8 — 44.8
Protein nitrogen	438 — 791
Urea	16.5 — 21.0
Creatinine	traces
Amino acids (calculated as tyrosine)	65 — 100
Diffusible calcium	67 — 75 % from the total
Cholesterol	5.3 — 6.2

Nitrogen was determined by the KJELDAHL method using a micro-distilling apparatus and urea by urease method with a VAN SLYKE and CULLEN aeration apparatus. The deproteinization by FOLIN and WU method and by trichloracetic and phosphotungstic acids showed filtrates which yielded different quantities of tyrosine probably due to the presence of polypeptides wich are retained by the phosphotungstic precipitates. Plasma calcium was studied in relation to the diffusibility through cellophane membranes. It was observed that 67 to 75 % of the calcium is dialyzable. It was supposed that the diffusible calcium must be bound to carbonic instead of phosphoric acid since the phosphate concentration is too low.

The absorption curve of the saturated plasma was obtained plotting the extinction coefficient values against the wave length. These determinations were done with a Pulfrich photometer (Fig. 1). The dissociation curve of haemocyanin was performed according to the colorimetric technic of PANTIN and HOGBEN. THUNBERG vacuum tubes were employed with satisfactory results.

It was observed that the saturation of the plasma is obtained with a partial pressure of oxygen of 60mm, with the pH of 7.6 and the temperature of 26°C.

BIBLIOGRAFIA

1. SCHULZ, Fr. N., 1925, *Die Körpersäfte (Crustaceen)*. *In* Winterstein Handbuch der Vergleichenden Physiologie, 1 (1): 667-746, G. Fisher, Iena.
2. MALUF, R., 1939, The blood of arthropods. *Quart. Rev. Biol.*, 14: 149-191.
3. VILLELA, G. G. & OLIVEIRA, L. P. H., 1941, Bioquímica do sangue do crustaceo "Uca maracoani" I. Calcio, fósforo e protideos totais, *Rev. Brasil. Biol.*, 1 (1): 69-73.
4. HOGBEN, L. T., 1925, Some observations on the dissociation of haemocyanin by the colorimetric method, *Brit. J. Exp. Biol.*, 3: 225-238.
5. PANTIN, C. F. A. & HOGBEN, L. T., 1923-25, A colorimetric method for studying the dissociation of oxyhaemocyanin suitable for class work, *J. Mar. Biol. Ass.*, 13: 970-980.
6. OLIVEIRA, L. P. & MOREIRA, C. A., 1940, Estudos sobre os elementos figurados do sangue do crustaceo "Uca pugnae" (Smith) var. Brasiliensis Oliveira (Decapoda: Ocypodidae), *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 35 (2): 317-325, est. 1, figs. 1-10.
7. PATTERSON J., 1925, Urea estimation on small quantities of blood, *Biochem. J.*, 19: 601-607.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 393-407
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

RECHERCHES SUR L'ATTAQUE ÉPILEPTIFORME PRODUITE PAR LE REFROIDISSEMENT BRUSQUE DE LA MOELLE ÉPINIÈRE (CRYOÉPILEPSIE)

Memoire troisième. Étude de l'influence de quelques facteurs sur les caractères du phenomène chez le "Leptodactylus ocellatus" des environs de Rio de Janeiro [1]

MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA, H. MOUSSATCHÉ et M. VIANNA DIAS
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Avec 11 figures)

En rédigeant ces mémoires d'ensemble (14,15) sur l'attaque épileptiforme due au refroidissement brusque de la moelle épinière chez la Grenouille, nous avons senti le besoin de remplacer cette longue expression par une dénomination plus brève. Le phénomène est suffisamment caractérisé et constitue quelque chose d'assez précis et d'individualisé: on peut donc le désigner d'une manière brève et explicite. Nous proposons l'expréssion *cryoépilepsie* comme dénomination générale du phénomène (de *kruos*, froid, et épilepsie). Nous insistons sur ce point essentiel: nous ne voulons pas, par l'expression *épilepsie* donner l'impression de croire à quelque analogie étroite entre les phénomènes que nous étudions et l'état pathologique décrit sous le nom d'épilepsie. Nous employons ce mot dans son sens général; d'ailleurs, on trouve en Physiologie des expressions équivalentes définitivement consacrées par l'usage: *épilepsie corticale expérimentale, épilepsie d'Amantea,* etc.

Influence des excitations réflexes sur la cryoépilepsie. L'attaque reflexe. L'inhibition. — Nous avons montré dans un mémoire antérieur de cette série (15) que l'attaque épileptiforme par le refroidissement brusque de la moelle peut être produite sans que la moelle reçoive des excitations extérieures pendant l'action du froid. Elle se montre après l'arrachement de la peau du train postérieur et même après la section des racines postérieures. L'attaque peut donc être d'origine exclusivement centrale, indépendante des excitations péri-

[1] Reçu le 17 Septembre 1941.
Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Institut Oswaldo Cruz. Fondation Sicard.

phériques. Cela ne veut pas dire, cependant, que les excitations réflexes n'exercent pas une action marquée sur la physionomie du phénomène.

Il est possible d'obtenir, en faisant agir des excitations réflexes un peu avant ou pendant la production de l'attaque de cryoépilepsie, deux effets opposés: des *effets de facilitation* ou des *actions d'inhibition* (8,13).

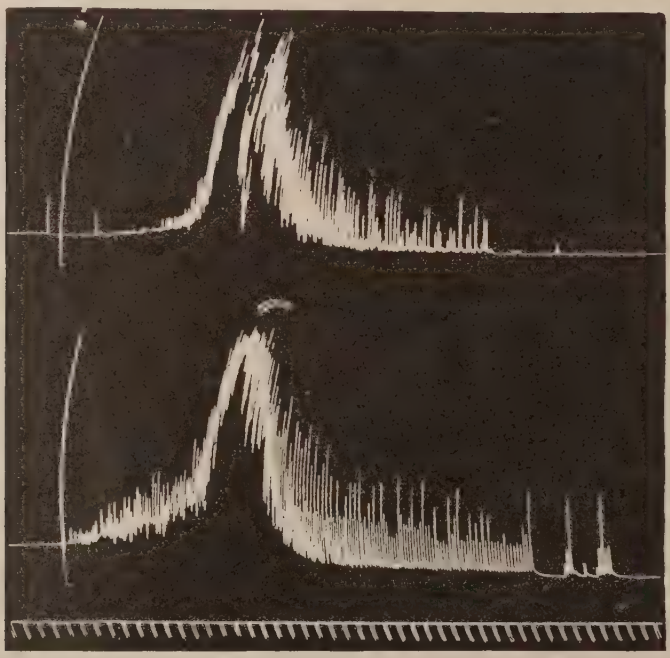


Fig. 1 — Attaque par refroidissement de la moelle. Ligne supérieure: gastrocnémien droit; ligne moyenne: gastrocnémien gauche. Temps en secondes. La patte gauche est soumise à des excitations mécaniques avant l'attaque.

Etudions d'abord l'action des excitations mécaniques, telles que les pincements, appliqués à l'une des pattes de la préparation pendant que la moelle est soumise au refroidissement. Il est préférable de faire les pincements en comprimant fortement la patte entre les doigts de l'opérateur, l'emploi de pinces métalliques pouvant donner lieu à des lésions. Supposons que la moelle soit soumise à une température bein au-dessous de la limite supérieure, de manière que l'attaque doive fatalement se produire. Au début du refroidissement, l'excitation provoque des réflexes, avec les caractères étudiés dans d'autres travaux (7). Après les différentes périodes que traverse le régime des réflexes, l'attaque se produit, mais avec des altérations qui ne peuvent pas passer inaperçues, même à la simple observation. Comme nous l'avons dit

(15), chez le *Leptodactylus ocellatus*, de Rio de Janeiro, les réactions convulsives sont sensiblement symétriques. Quand on applique des excitations d'un seul côté, qu'il y ait ou non, dès le début, des réactions réflexes visibles, l'attaque commence par le côté excité. Supposons, pour bien fixer les idées, que ce soit la patte gauche qui reçoit les excitations. Les tremblements commencent de ce côté-là: ils deviennent déjà intenses et augmentent de plus en plus à gauche, tandis qu'à peine ils commencent à droite. Ensuite, quand la patte gauche est déjà arrivée à la phase d'extension tonique, et qu'elle se montre roide et tendue, la patte droite se trouve encore dans la période initiale des tremblements. Celle-ci atteint la phase tonique quand la patte gauche est déjà dans la période finale des convulsions cloniques. Il y a donc un *décalage* des réactions, avec une précèssion du côté excité.

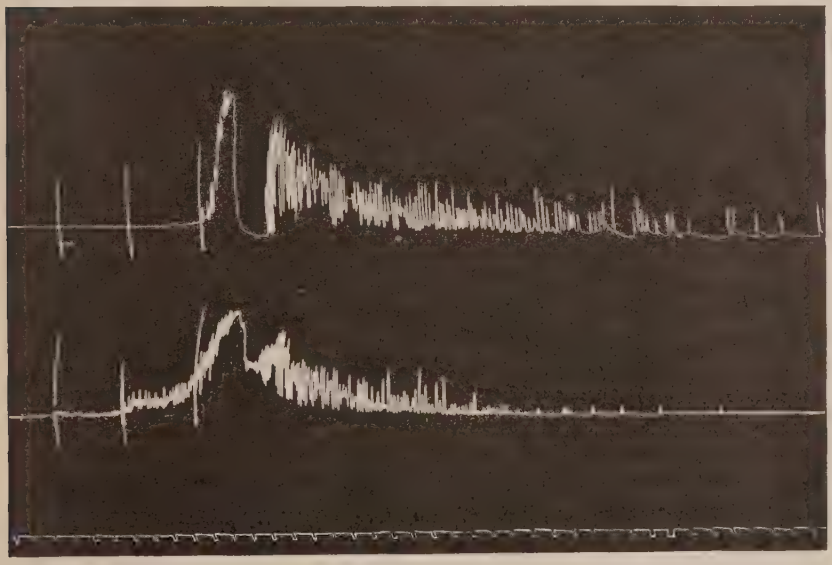


Fig. 2 — Même signification des lignes que pour la fig. 1. Effet des excitations de la patte gauche avant l'attaque.

L'étude par la méthode graphique nous permet de bien examiner ces points et encore d'autres faits qui ne peuvent pas être étudiés par la simple observation. Les tracés (figs. 1 et 2) nous montrent des attaques de cryoépilepsie, dans lesquelles une des pattes est excitée. Dans les deux tracés, la ligne supérieure représente les contractions du gastrocnémien droit, la moyenne celles du gastrocnémien gauche, l'inférieure le temps en secondes.

Dans le cas du tracé I, la température du bain réfrigérant était de 3°,5. La patte gauche fut soumise à des excitations mécaniques dès le début du refroidissement de la moelle. Les traits de répère montrent

bien que la patte excitée a débuté par des contractions cloniques capables d'agir sur le levier myographique bien avant la patte droite. Presque aussitôt, ces contractions cloniques commencent à se superposer à une composante tonique, pendant que le gastrocnémien droit fait quelques secousses à peine perceptibles. A gauche, dans la patte excitée, l'attaque a donc commencé 7 ou 8 secondes avant celle de droite.

Dans le tracé II on observe des faits semblables. La température du bain fut de 2°. L'attaque à gauche précède de 7 secondes environ celle de droite. Il y a un intervalle entre le deuxième et le troisième traits de repère, pendant lequel la patte excitée entre déjà dans la phase tonique pendant que la patte droite est encore en repos presque parfait. La précéssion de l'attaque du côté excité, observée par la méthode graphique, se montre variable d'une expérience à l'autre. Si, dans la plupart des cas, elle est assez grande et peut même atteindre 10 secondes, dans d'autres, elle peut se montrer très réduite, de 1 à 2 secondes à peine. Remarquons que, pour obtenir les tracés, il faut fixer fortement la préparation par de nombreuses épingles (V. la note de la page 172 du mémoire 14). Il y a donc toujours des excitations périphériques indépendantes des excitations appliquées, dont l'intensité et l'action ne sont pas contrôlées par l'expérimentateur.

Ces excitations indéterminées peuvent déjà donner des changements dans les tracés normaux. Si l'attaque se montre symétrique à l'observation, quand le train postérieur pend librement, s'il se montre symétrique encore dans plusieurs tracés, comme dans celui publié dans le mémoire antérieur, quelques'uns des tracés doubles montrent parfois de petites différences. Ces différences ne sont pas sensibles en ce qui concerne la période latente ou l'évolution générale des différentes périodes. On peut, cependant, trouver l'attaque plus prolongée d'un côté que de l'autre. L'intensité des contractions initiales peut aussi être plus grande d'un côté, ce qui explique les oscillations du début que nous avons signalées dans le mémoire antérieur à propos de l'enregistrement myographique différentiel (15, V. pg. 182). Dans le cas de l'attaque réflexe, ces différences de durée forment la règle générale. Elles n'ont pas une importance particulière, puisqu'on peut trouver des durées plus grandes d'un côté ou de l'autre. Les différences d'intensité ou de forme des phases tonique et clonique aussi ne sont pas constantes. La modification essentielle due aux excitations réflexes nous semble être la précéssion de l'attaque du côté excité. Dans plusieurs tracés, on observe nettement des différences des durées de la phase tonique.

Il y a une autre méthode pour bien mettre en évidence l'attaque réflexe. On règle la température du bain de manière telle qu'elle soit plus élevée que la limite supérieure de la température de production de l'attaque. Chez nous, à Rio de Janeiro, la limite supérieure se trouve à 8°,5, et, cependant, on peut facilement obtenir des attaques réflexes, la moelle étant plongée dans un bain de Ringer à 12°. Exceptionnelle-

ment, il est possible de voir des attaques même à des températures encore plus élevées, mais il faut pour cela que les excitations soient longuement répétées. Dans les conditions habituelles, les excitations réflexes bilatérales produisent l'attaque, les excitations unilatérales le déclenchent aussi avec précéssion des réactions dans la patte excitée et asymétrie nette des phases successives.

Les excitants chimiques appliqués sur la peau donnent des résultats semblables, quoique moins constants. De solutions d'acide sulfurique à des titres divers nous ont servi d'excitants. D'une manière générale, ces excitants se sont montré moins efficaces que les excitants mécaniques. Si le titre de la solution d'acide est au-dessous de 2 p. 100, ou en tout cas ne dépasse pas 3 p. 100, l'excitation unilatérale déclenche l'attaque. Celle-ci est asymétrique, mais le décalage des réactions est plus réduit que dans le cas de l'application des excitants mécaniques. Quelquefois, ce décalage est net seulement pour la période iniciale, les autres phases devenant simultanées. Les excitants plus forts déclenchent aussi l'attaque et ce phénomène est plus facile à observer dans les expériences où la température du bain est proche de la température limite. Dans les températures très basses, l'attaque produite se présente parfois sans aucun caractère qui la rende différente de l'attaque observée dans les autres conditions. Mais dans quelques cas, elle se montre raccourcie, bornée aux deux prémières périodes.

On a là le premier exemple d'une action d'inhibition sur l'attaque de cryoépilepsie. Avec des excitants chimiques forts (solutions d'acide à 6-10 p. 100), appliqués après le début des convulsions sur la peau des membres, on observe souvent une réduction ou même la disparition de la troisième période, la phase des contractions cloniques. Il semble donc que l'effet produit par l'application de l'excitant, dépend du moment de son action par rapport à l'attaque: il peut déclencher l'attaque ou l'inhiber quand celle-ci est déjà commencée.

En dehors des excitations mécaniques de pincement et des excitations chimiques appliquées sur la peau, des excitations réflexes de nature plus complexe peuvent, avec une grande netteté, donner lieu à des effets de facilitation ou d'inhibition de l'attaque. Les réflexes labyrinthiques sont de ce nombre.

Pour bien constater les phénomènes de ce genre, il faut employer la technique du refroidissement de la moelle par un jet de chlorure d'éthyle (14). Évidemment, on doit employer la préparation de système nerveux intégral, dans laquelle on peut conserver ou éliminer les hémisphères cérébraux. Pour provoquer les réflexes labyrinthiques au moment voulu, on peut simplement imprimer à la partie de la préparation contenant le système nerveux, des mouvements de rotation. Il est préférable d'utiliser l'appareil décrit dans un travail antérieur (11), ou alors n'importe quel appareil plus simple que l'on peut monter soi-même avec les ressources habituelles des laboratoires de Physiologie.

Si, une fois la préparation montée, on fait le refroidissement de la moelle par le chlorure d'éthyle, et, à l'instant où les premiers tremblements fibrillaires des muscles indiquent l'approche de l'attaque, on soumet la partie de la préparation contenant le système nerveux à des mouvements de rotation autour de l'axe longitudinal, l'attaque est brusquée et commence immédiatement par la phase tonique. Si les réflexes labyrinthiques sont produits trop tôt, bien avant le début de l'attaque, on voit dans les tracés que les réactions (dans le cas, les contractions du gastrocnémien) augmentent d'amplitude et se montrent plus compliquées dans leurs caractères (fig. 3). [2]

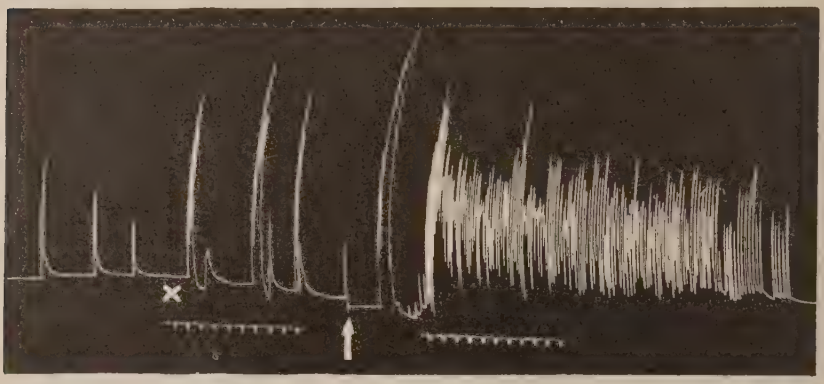


Fig. 3 — Contractions du gastrocnémien. Avant "x" réflexes labyrinthiques. A l'instant "x" on commence le refroidissement de la moelle (remarquer le changement des réflexes). Au point marqué par une fleche, on arrête le cylindre. Aux premiers tremblements initiaux de l'attaque on provoque de nouveau un réflexe labyrinthique qui déclanche la phase tonique. Attaque. Temps en secondes.

Il y a là donc une action des réflexes labyrinthiques sur l'attaque épileptiforme, qui se traduit nettement par le déclenchement précoce de l'attaque. C'est une action d'excitation. Il est intéressant d'observer que, dans certains cas, au lieu d'avoir immédiatement la réaction tonique d'extension des pattes postérieures, réaction symétrique, on observe une réaction tonique des membres postérieurs qui reproduit l'attitude de ces membres dans la position caractéristique du réflexe labyrinthique que l'on a provoqué. Dans la forme d'excitation employée, on obtient une réaction égale à celle décrite par Dusser de Barenne (2) pour le cas où la Grenouille est suspendue verticalement au moyen d'un fil passé à travers la machoîre, et soumise à une rotation autour de l'axe longitudinal. Suivant le sens de la rotation, l'une des pattes postérieures présente un mouvement en extension et abduction, tandis que l'autre fait un mouvement en flexion. Dans ce double mouvement, la prémière se place au devant de l'autre. En

[2] L'analyse, par la méthode graphique, des réflexes labyrinthiques fera l'objet de plusieurs travaux qui seront prochainement publiés.

d'autres termes, la réaction réflexe est prolongée par l'attaque et donne à celle-ci un aspect particulier.

On peut, d'autre part, provoquer aussi les réflexes labyrinthiques après le début de l'attaque. On obtient alors des résultats un peu variables. Dans certains cas, l'attaque se poursuit, la phase clonique est à peu près de longueur normale, et l'on distingue nettement, parmi les secousses cloniques, les secousses à large amplitude, caractéristiques des réactions labyrinthiques (fig. 4). Dans d'autres cas,

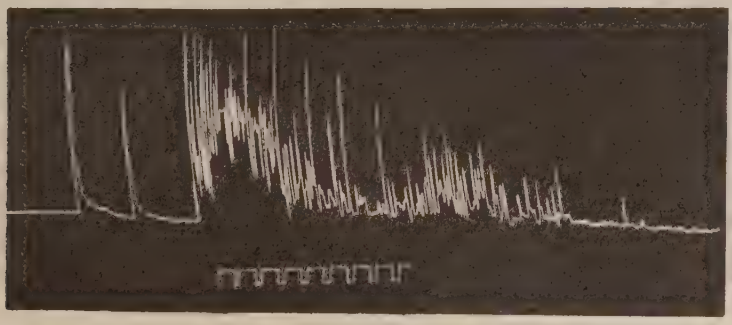


Fig. 4 — Réflexes labyrinthiques et attaque de cryoépilepsie. Gastrocnémien. Temps en secondes. Pendant l'attaque on provoque des réflexes labyrinthiques: les contractions dues à des réflexes sont nettement visibles parmi les contractions dues à l'attaque.

l'attaque est supprimée, moins la phase tonique. Si les contractions réflexes commencent avant le début de l'attaque et sont répétées avec une certaine fréquence, la phase tonique apparaît, dans plusieurs cas déclenchée même par les réflexes, et, après, elle n'est pas suivie par la phase clonique, ou alors celle-ci se montre extrêmement réduite. présentant seulement quelques contractions qui cèssent aussitôt (figs. 5 et 6). Dans un cas comme dans l'autre immédiatement après l'attaque, il devient impossible d'obtenir de nouveau les réflexes labyrinthiques; ceux-ci ne reviennent qu'après un certain temps.

Il y a là donc un effet indiscutable d'inhibition d'une phase de l'attaque dû aux réflexes labyrinthiques, effet qui dépend essentiellement du moment où ces réflexes sont provoqués, et, probablement, d'autres facteurs, tels que l'intensité et la fréquence de ces réflexes.

Dans une de nos expériences il nous a été donné de faire une observation intéressante. Les réflexes labyrinthiques provoqués à partir d'une certaine période du refroidissement de la moelle, ont produit, tout d'abord la phase tonique de l'attaque et, ensuite, ont inhibé la phase clonique. Après un certain temps, en provoquant de nouveau les refléxes labyrinthiques, il y a eu une attaque exclusivement clonique. On dirait que celle-ci est restée suspendue pendant quelque temps et est venue compléter, après cet intervalle, l'attaque interrompue.

Dans une note déjà publiée, nous avons décrit un phénomène bien caractérisé, auquel nous avons donné le nom de *réflexe du saut* (12).

Si on laisse tomber, d'une certaine hauteur, une Grenouille spinale, ou une préparation moelle isolée-train postérieur, de manière telle que la chûte se fait sur la plante des pieds, la préparation rébondit dans un

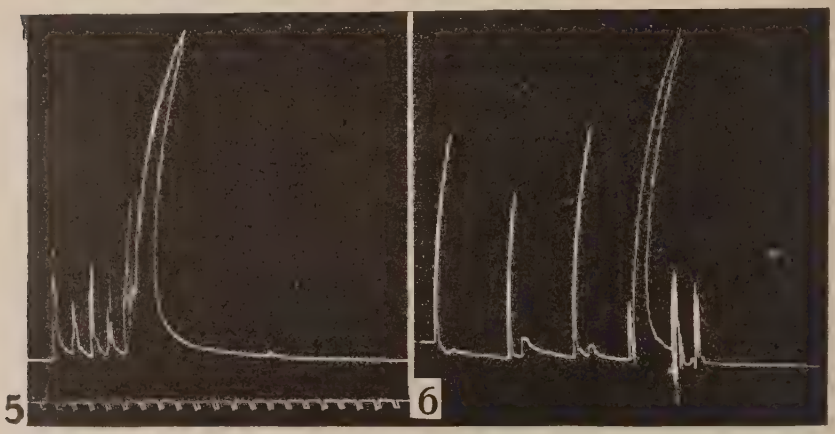


Fig. 5 — Inhibition de l'attaque par les réflexes labyrinthiques. L'attaque est reduite à la phase tonique. Dans le tracé celle-ci est précedée par les contractions du gastrocnémien dues aux réflexes labyrinthiques. Fig. 6 — Inhibition de l'attaque par les réflexes labyrinthiques.

saut qui peut atteindre une hauteur assez considérable. Cette réaction réflexe se montre très éxagérée si on réfroidit préallablement la moelle aux environs de 10°, donc à une température plus élévée que la limite supérieure de l'attaque.

Le réflexe du saut peut aussi avoir une action excitante ou une action inhibitrice sur l'attaque épileptiforme, suivant le moment ou il est provoqué. On peut vérifier l'action excitante des deux manières ci-dessus décrites à propos de l'étude des excitations mécaniques.

L'action inhibitrice du réflexe du saut s'exerce, comme pour le cas des réflexes labyrinthiques ou des excitations chimiques, sur la phase clonique de l'attaque. En refroidissant la moelle, on attend que l'attaque commence, que la phase tonique soit passée, et, au début de la période clonique, on provoque le réflexe du saut. Les convulsions cloniques s'arrêtent aussitôt. Ce résultat n'est pas constant. Il y a des cas où l'on observe un arrêt total, d'autres où il y a un raccourcissement plus ou moins marqué de la phase clonique. Ces différences sont dues, probablement, à ceci que l'action inhibitrice intervient à des moments différents de l'évolution de l'attaque; d'autre part, il y a toujours les variations d'intensité des réflexes provoqués.

En résumé, les réflexes labyrinthiques et certains réflexes d'origine cutanée peuvent exercer une action d'excitation ou une action d'arrêt sur l'attaque épileptiforme par refroidissement de la moelle, suivant le moment de l'action et suivant l'intensité de l'excitant.

La cryoépilepsie et l'inhibition de Richet. — Quand on injecte une solution concentrée de chlorure de sodium dans le sac lymphatique dorsal de la Grenouille, il se produit un état particulier d'inertie, caractérisé par une inhibition générale du système nerveux. Nous avons consacré à ce phénomène, auquel nous avons donné la dénomination d'*inhibition de Richet,* étant donnée qu'il fut découvert par le célèbre physiologiste français, toute une série de recherches exposées dans un mémoire spécial (10). Dans ce travail, nous avons montré que l'inhibition de Richet n'empêche pas la production de l'attaque épileptiforme par le refroidissement, quoique ce phénomène puisse manquer dans plusieurs cas. Nous ferons ici un exposé plus détaillé de nos recherches, en tenant compte d'autres expériences nouvelles.

Dans nos prémières expériences nous injections la solution de NaCl dans le sac lymphatique dorsal et, quand l'animal présentait l'état typique de l'inhibition, nous faisions rapidement la préparation de moelle isolée et plongions sans retard la moelle dans le Ringer refroidi. Cette technique n'est pas libre d'objections. L'inhibition de Richet ne se produit pas chez les Grenouilles spinales et dépend essentiellement des centres supérieurs. D'autre part, l'opération d'isolement du système nerveux intégral exige plus de temps et on risque de la finir après la fin de la période d'inhibition, d'autant plus que la période latente de l'attaque est plus longue pour cette dernière préparation. Enfin, quand on coupe la moelle, une certaine quantité de la solution concentrée de NaCl, subsistante dans le sac lymphatique peut se mettre en contact avec la surface coupée de la moelle spinale et même produire des attaques chimiques du genre de celles décrites par deux d'entre nous (3).

Dans nos expériences définitives sur l'influence de l'inhibition de Richet, nous avons donc utilisé seulement les préparations de système nerveux intégral. La partie antérieure de la préparation était tout d'abord plongée dans la solution concentrée de NaCl, en prenant garde de ne pas laisser les nerfs iliaques venir au contact de la solution, ce qui produirait des phénomènes d'irritation. Quand les réflexes disparaissaient, on la retirait rapidement de la solution et on la plongeait dans le bain réfrigérant. Dans bon nombre de cas, l'attaque s'est produite avec les caractéristiques normales. Cependant, dans une série de 12 expériences, il y a eu 4 résultats négatifs, c'est-à-dire, l'attaque a manqué 4 fois. Nous avons varié les conditions du refroidissement. L'attaque s'est produite, la moelle étant plongée dans un bain de solution à 20 p. 100 de NaCl, refroidi à 0°, comme aussi dans le bain de Ringer. Il a manqué dans quelques cas de refroidissement par le chlorure d'éthyle, comme aussi dans le bain de Ringer.

Étant donnée que, dans les conditions normales, à Rio de Janeiro, l'attaque de cryoépilepsie ne manque jamais chez de *Leptodactylus ocellatus,* on peut supposer que, à une certaine phase de l'inhibition de Richet, d'ailleurs difficile à déterminer avec exactitude, la production de l'attaque n'est pas constante. Sous cette réserve, on doit

conclure, cependant, que, d'une manière générale, l'inhibition de Richet n'empêche pas l'attaque.

Influence de la déshydratation préalable de la Grenouille sur l'attaque de cryoépilepsie. — Plusieurs auteurs se sont occupés de la question de l'influence du métabolisme de l'eau sur les attaques convulsives de l'homme et sur certaines formes d'épilepsie expérimentale. Il est donc intéressant de chercher quelle est l'action d'une déshydratation préalable de la Grenouille sur les caractéristiques de l'attaque spinale par refroidissement, d'autant plus que la perte d'eau, chez les Batraciens, a des effets très importants sur les fonctions du système nerveux. Cette question fut autrefois l'objet de recherches systématiques de l'un de nous (4). Nous renvoyons à ce travail aussi bien qu'aux travaux plus récents de P. Rey (16,17), le lecteur désireux d'approfondir ce point. Rappelons ici seulement que les Grenouilles laissées à sec perdent de l'eau par évaporation à la surface de la peau, et que cette perte produit des effets différents suivant sa vitesse. Si les conditions de l'évaporation ne permettent pas une déshydratation trop rapide, les animaux se maintiennent en bonnes conditions jusqu'à une perte supérieure à 30 p. 100 de leur poids. Alors, avec des pourcentages un peu variables d'un individu à l'autre, les tissus deviennent visiblement desséchés, et les Grenouilles tombent dans un état d'inertie progressive, jusqu'à ce que la mort s'ensuive.

Nos expériences sur les effets de la déshydratation sur la cryoepilepsie laissent encore ouvertes plusieurs questions, qui font l'objet des recherches en train. Nous résumerons ici quelques'uns des faits, parmi les plus intéressants. Les premiers résultats obtenus furent publiés dans une communication préalable (6).

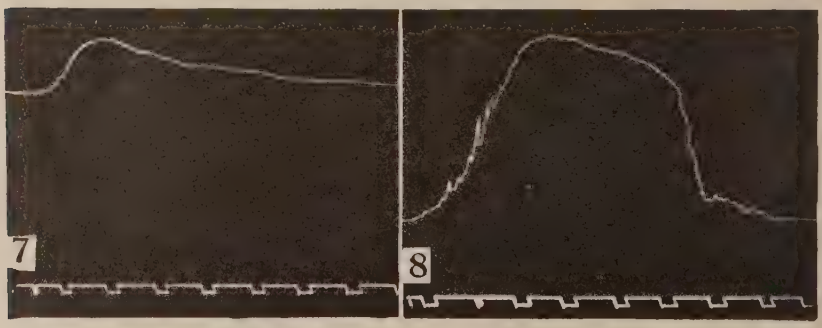


Fig. 7 — Attaque chez une grenouille qui a perdu 31,4 p. 100 de son poids en eau. Système nerveux integral. Temp. du bain 3°. Temps en secondes. Fig. 8 — Attaque chez une grenouille qui a perdu 34,3 p. 100 de son poids en eau. Moelle isolée. Temps en secondes.

Pendant la période préparatoire de l'expérience, les Grenouilles étaient laissées à sec, chacune dans un boccal en verre recouvert d'une

toile métallique. Elles étaient pésées tous les jours. Quand elles avaient perdu 30 p. 100 environ de leur poids, elles étaient soumises à l'expérience de refroidissement brusque de la moelle ou du système nerveux isolé. Dans plusieurs expériences, on observait simplement l'attaque; dans d'autres on prenait des tracés.

Ce qui frappe immédiatement dans les résultats de ces expériences, c'est la diminution de la période latente. Dans certaines séries d'expériences, nous avons constaté que, quand les Grenouilles ont perdu plus de 25 p. 100 de leur poids par l'effet de la déshydratation, la période latente est beaucoup plus réduit que dans le cas des Grenouilles normales, les expériences étant faites à des températures égales. La limite supérieure de température compatible avec l'attaque, se montre aussi profondément altérée. Nous avons obtenu des attaques à des températures de 12° et même une à 14,°4. Ici nous ne faisons que signaler ces faits; pour bien saisir leur signification, il faut connaître les lois générales relatives à la période latente et à la limite supérieure; l'exposé complet de ces questions dans leur état actuel sera fait dans le prochain mémoire.

Nous devons faire remarquer ici que l'élévation si prononcee de la limite supérieure pourra être le point de départ de l'explication de certains faits qui mériteraient bien d'être repris et systématiquement étudies.

Dans un vieux travail completement oublié, Chossat (1868) (1), a observé des convulsions tétaniques chez des Grenouilles désséchées.

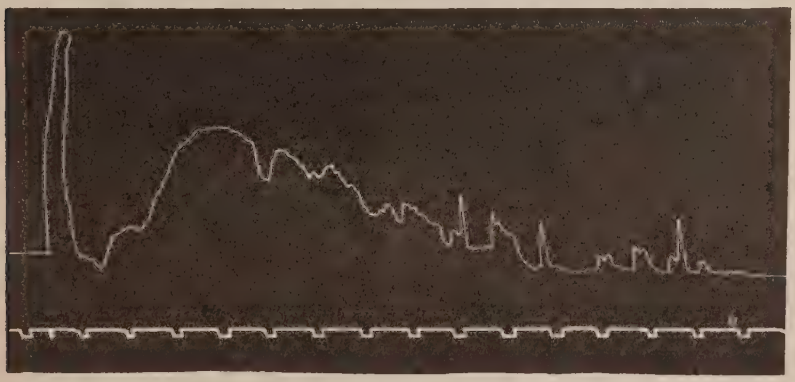


Fig. 9 — Attaque chez une grenouille déshydratée. Pourcentage de perte d'eau 33,6 p. 100. Système nerveux integral. Temp. du bain 5°. Temps en secondes.

Malheureusement, il ne donne pas le pourcentage de perte d'eau au moment où ces convulsions furent observées, en se bornant à publier la perte totale au moment de la mort des animaux. En examinant attentivement ses protocolles d'expériences, nous constatons que les convulsions ne furent jamais observées pendant la saison chaude, en Septembre, quand la température, comme il le déclare lui-même, était

très élevée. En Février, il parle de "la basse température du laboratoire". A cette dernière époque, dans une des expériences, portant sur deux Grenouilles, après dix jours de déshydratation progressive, CHOSSAT remarque:

> "Mises au contact de l'air libre (les *Grenouilles étaient auparavant sous une cloche*), elles exécutent d'abord avec assez de difficulté quelques mouvements d'ambulation, puis elles sont prises subitement de contractions fibrillaires dans les membres postérieurs. Ces contractions, tout-à-fait semblables à celles qu'on provoque en plongeant une épingle ou un stylet délié dans le canal rachidien d'une grenouille saine ou qu'on vient de décapiter, ces contractions, dis-je, se généralisent et aboutissent à un véritable état tétanique, comme si l'animal était sous l'influence de la strychnine."

Dans les autres expériences, des convulsions tétaniques prolongées furent observées, en général, au moment de prendre les Grenouilles pour la pesée ou en les excitant. La limite supérieure de l'attaque de cryoépilepsie se trouve, chez les Grenouilles européennes, au-dessous de 0°, comme l'un de nous l'a constaté (5). Probablement, dans le cas de la déshydratation, la limite se trouvait, dans les expériences de CHOSSAT, à des niveaux déjà assez élevés; la température extérieure étant assez basse, les excitations cutanées ont pu donner lieu à des attaques réflexes.

Il est difficile d'observer le moment de la mort des Grenouilles dans des expériences de cette nature. Dans un cas, pourtant, nous avons pu assister à des phénomenes semblables à ceux que nous venons de rappeler.

Le 2 Décembre 1939, une Grenouille pesant 40 grs. fut laissée à sec à 13 heures. Le 4 Décembre son poids était réduit à 30 grs. A 11 heures, l'animal se montrait un peu déprimé. A 12 heures, il présente spontanément des convulsions tétaniformes, après lesquelles l'animal est resté dans un état de profonde dépression. Quelques minutes après, il reprend un peu de sa vivacité, les réflexes reviennent, mais se généralisent facilement, comme si la Grenouille se trouvait toujours sous l'action de la strychnine. Malgré l'injection de 3cc. de solution de Ringer, les convulsions se reproduisaient toujours et la Grenouille fut trouvée morte à 13 heures.

La forme de l'attaque présente des altérations remarquables chez les Grenouilles désséchées. Les tremblements initiaux ne se montrent pas dans la majorité des expériences. L'attaque survient sans s'annoncer, en commençant immédiatement par la phase tonique. Si la déshydratation est trop grande, l'attaque peut être réduite à une simple contraction soutenue des extenseurs, qui dure 5 ou 6 secondes (fig. 7). Dans la fig. 8, nous voyons une attaque produite chez une Grenouille qui avait perdu 34,3 p. 100 de son poids en eau. La courbe de la contraction tonique montre quelques tressaillements, indiquant la fusion incomplète des contractions cloniques. En réalité, quand la déshydratation arrive à un dégré avancé, les contractions cloniques

tendent à perdre leur individualité et à se confondre dans une contraction tonique plus ou moins parfaite. Parfois, on peut distinguer

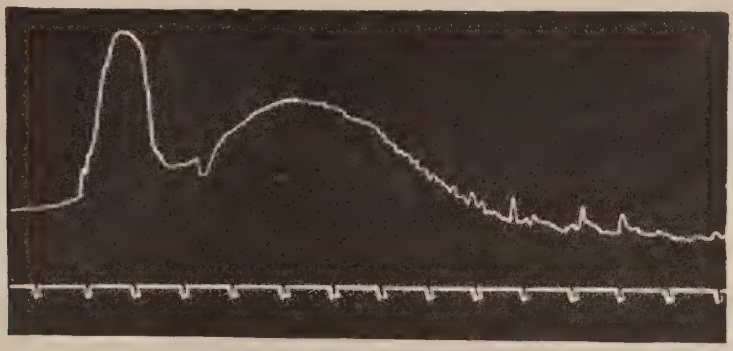


Fig. 10 — Grenouille déshydratée. Moelle isolé. Perte d'eau 32,3 p. 100. Temp. du bain 3°. Temps en secondes.

nettement dans les tracés les parties correspondantes à chacune des phases de l'attaque. Dans la fig. 9, nous reproduisons le tracé de l'attaque obtenue chez une Grenouille qui avait perdu 33,6 p. 100 de

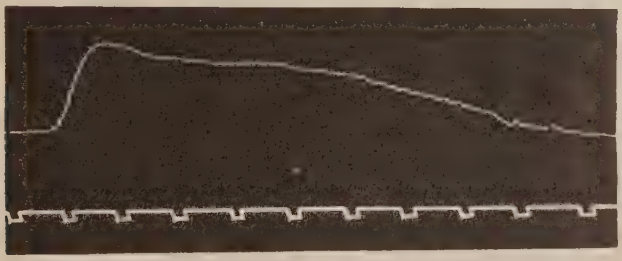


Fig. 11 — Grenouille déshydratée. Moelle isolée. Perte d'eau 29,9 p. 100. Temp. du bain 0°,5. Temps en secondes.

son poids. La phase tonique est survenue brusquement, mais elle se montre bien individualisée; la phase clonique se présente comme une contraction soutenue, avec des irrégularités à rythme lent. Dans la fig. 10, la fusion des deux phases, tonique et clonique, est plus avancée et les irrégularités de la phase correspondante aux contractions cloniques ont une amplitude plus réduite. Enfin, dans la fig. 11, on passe sans interruption d'une phase à l'autre; les oscillations cloniques sont presque invisibles.

Devant tous ces changements des caractères de l'attaque de cryoépilepsie, par la déshydratation préalable, on peut se demander quelle est la part qui revient à des altérations du système nerveux et celle qui est due à des modifications des fonctions des muscles. Avec la déssication, ceux-ci présentent une plasticité et une viscosité interne très augmentées, comme nous l'avions déjà signalé dans des recher-

ches sur le tonus (9). Sans doute, ces altérations jouent un rôle important dans les altérations de la forme de l'attaque et la transformation progressive de la phase clonique en phase tonique. L'élévation de la limite supérieure et la réduction de la période latente indiquent cependant des altérations du fonctionnement des centres nerveux. Nous ne pouvons que signaler ici ces questions, qui doivent faire l'objet de nouvelles recherches.

RESUME ET CONCLUSIONS

1. Nous proposons dans ce travail l'expression *cryoépilepsie* pour désigner l'attaque produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière de la Grenouille.

2. Les excitations réflexes d'origine cutanée appliquées pendant le refroidissement de la moelle épinière donnent lieu à des modifications de l'attaque. Elles réduisent la période latente, quand la température du bain est au-dessous de la limite supérieure. Elles permettent, d'autre part, d'obtenir des attaques à des températures plus élevées que cette limite.

3. Les excitations cutanées unilatérales donnent lieu à une diminution unilatérale de la période latente. L'attaque peut devenir asymétrique, le côté excité présentant une précéssion des différentes périodes.

4. Les excitants chimiques, à côté d'effets semblables, peuvent donner lieu à une inhibition de l'attaque.

5. Les réflexes labyrinthiques et le réflexe du saut peuvent avoir une action excitante ou une action d'arrêt sur l'attaque suivant l'intensité de l'excitant et le moment où son action se fait sentir.

6. L'inhibition de Richet, produite chez la Grenouille par l'injection dans le sac lymphatique dorsal d'une solution concentrée de NaCl, n'empêche pas l'attaque de cryoépilepsie. Cependant, l'attaque, dans ces conditions, devient plus difficile d'obtenir, puisqu'il est possible d'avoir plusieurs résultats négatifs, ce qui ne se produit jamais dans les conditions normales.

7. Chez les Grenouilles déshydratées, la période latente de l'attaque se montre très réduite et la limite supérieure de température très élevée.

8. La déshydratation produit des modifications remarquables de la forme de l'attaque, que nous décrivons en détail dans ce travail. Ces altérations se traduisent par une fusion progressive des contractions qui forment la phase clonique et, ensuite, par une fusion des deux phases tonique et clonique.

RESUMO E CONCLUSÕES

1. Propomos neste trabalho a expressão *crioepilepsia* para designar o ataque produzido pelo resfriamento brusco da medula espinhal na Rã.

2. As excitações reflexas de origem cutânea, aplicadas durante o resfriamento da medula espinhal dão lugar a modificações acentuadas do ataque. Reduzem o período latente, quando a temperatura do banho refrigerante está abaixo do limite superior. Permitem, por outro lado, obter ataques em temperaturas mais elevadas do que esse limite.

3. As excitações cutâneas unilaterais dão lugar à diminuição unilateral do período latente. Pode o ataque tornar-se assimétrico, pois que o lado excitado apresenta uma precessão dos diferentes períodos.

4. Os excitantes químicos, além-de efeitos semelhantes, podem dar lugar a uma inhibição parcial do ataque.

5. Os reflexos labirínticos e o reflexo do salto podem ter uma ação excitante ou uma ação frenadora sobre o ataque, segundo a intensidade do excitante e o momento em que sua ação se faz sentir.

6. A inhibição de Richet, produzida na rã pela injeção no saco linfático dorsal de uma solução concentrada de NaCl, não impede o ataque de crioepilepsia. Entretanto, nessas condições, o ataque se torna mais dificil de obter, pois que foi possivel ter vários resultados negativos, o que jámais se produz nas condições normais.

7. Nas rãs deshidratadas, mostra-se o período latente do ataque muito reduzido e o limite superior de temperatura muito elevado.

8. A deshidratação produz modificações notaveis da forma do ataque, descritas minuciosamente na memória. Traduzem-se essas alterações por uma fusão progressiva das contrações que formam a fase clônica e, em seguida, por uma fusão das duas fases, tônica e clônica.

BIBLIOGRAPHIE

1. CHOSSAT, TH., 1868, Recherches sur la concentration du sang chez les Batraciens. *Arch. Physiol. norm. path.*, 1: 358-375, 507-516.
2. DUSSER DE BARENNE, J. G., 1918, Über eine neue Form von vestibulären Reflexen beim Frosch. *Psychiat. neurol. Bl., Amst.*, 22: 258-261.
3. MOUSSATCHÉ H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Sur une attaque convulsive produite par l'excitation chimique directe de la moelle épinière chez la Grenouille brésilienne. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 129: 995-997.
4. OZORIO DE ALMEIDA, M., 1926, Sur les effets de la déshydratation des Batraciens produite par la ventilation. *J. Physiol. Path. gén.*, 24: 243-249.
5. OZORIO DE ALMEIDA, M., 1939, Sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière chez la Grenouille européenne. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 132: 233-235.
6. OZORIO DE ALMEIDA, M. & MOUSSATCHÉ, H., 1936, Sur les caractéristiques de l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque du système nerveux isolé chez les Grenouilles soumises à la déshydratation. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 121: 583-585.
7. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Action du refroidissement de la moelle épinière sur les réflexes de la Grenouille sud-américaine (*Leptodactylus ocellatus*). *C. R. Soc. Biol., Paris*, 127: 707-710.
8. OZORIO DE ALMEIDA, M. MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Influence des excitations réflexes sur l'attaque épileptiforme de la Grenouille sud-américaine due au refroidissement brusque de la moelle épinière. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 127: 710-712.
9. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Sur quelques causes d'erreur dans l'étude du tonus masculaire chez la Grenouille. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 127: 717-720.
10. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1938, Recherches sur l'inhibition de Ch. Richet. *Arch. int. Physiol.*, 47: 277-288.
11. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1939, Sobre o método de estudo dos reflexos labirínticos na rã. *Brasil Med.*, 53 (26), 643-646.
12. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1940, Sur le réflexe du saut chez la Grenouille. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 133: 713-716.
13. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1940, Sur les effets d'excitation ou d'inhibition de certains réflexes sur l'attaque épileptiforme de la Grenouille produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière. *Brasil Méd.*, 54 (16), 283-285.
14. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1941, Recherches sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière. Premier mémoire — Introduction et technique. *Rev. Brasil. Biol.*, 1 (2): 165-177.
15. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1941, Recherches sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière. Mémoire deuxième. — Étude physiologique du phénomène chez le *Leptodactylus ocellatus* des environs de Rio de Janeiro. *Rev. Brasil. Biol.*, 1 (2): 179-194.
16. REY, P., 1937, Recherches expérimentales sur l'économie de l'eau chez les Batraciens. 1er. Mémoire: Introduction et 1er. Partie: Caractères généraux de l'économie de l'eau chez quelques espèces. *Ann. Physiol. Physicochim. biol.*, 13: 1081-1144.
17. REY, P., 1938, Recherches expérimentales sur l'économie de l'eau chez les Batraciens. 2e. mémoire: Étude particulière de quelques facteurs de l'économie de l'eau. *Ann. Physiol. Physicochim. biol.*, 14: 1-65.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 409-414
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SÔBRE A "JOANINHA" "COCCIDOPHILUS CITRICOLA" BRÈTHES, 1905 (Coleoptera, Coccinellidae) [1]

A. DA COSTA LIMA
Escola Nacional de Agronomia, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 5 figuras no texto)

Em 1905, BRÈTHES, na Argentina, creou o gênero *Coccidophilus* para uma nova espécie de Clavicórnio predador de *Mytilococcus beckii* (Newman) [*Mytilaspis citricola* (Packard)].

Descrevendo um novo gênero, sem declarar a que família pertencia, apenas informou que o mesmo "tiene alguna relación con el genero *Fallia* Sharp".

Depois da publicação do artigo de BRÈTHES vê-se o inseto citado num trabalho de AUTRAN (1907), assinalando a observação do Sr. ICHES, que o viu atacando *Pseudaulacaspis pentagona*.

PORTER, em contribuição publicada anos depois, informa que, no Chile, o *Coccidophilus* é predador de várias espécies de *Aspidiotus*.

SALVADORES, na mesma época, observando a eficiência com que o *Coccidophilus* ataca o *Mytilococcus beckii* na Argentina, preconizou a propagação artificial do predador no combate a este Coccideo.

LIZER, que em 1915 descrevera a variedade *Coccidophilus citricola rufus* n. var., menciona em 1920 a espécie de BRÈTHES como predadora de *Aulacaspis pentagona*, de *Chrysomphalus aonidum* e de *Lepidosaphes beckii*.

BLANCHARD (1922), tratando das principais cochonilhas das plantas do gênero *Citrus*, diz:

> "El *Coccidophilus citricola*, Brths., se encuentra en casi toda la República y es uno de los parásitos más activos de la "Serpeta" o "Coma de los Citrus".

Informes ulteriores sôbre o inseto encontram-se nos artigos de BERTONI, ELGUETA e DE SANTIS; êste o observou atacando *Protargionia larreae* Leonardi.

---

[1] Recebido para publicação a 19 de Setembro de 1941.

Todavia, os dados mais interessantes até agora publicados sôbre êle são os que constituem uma nota de FLANDERS. Nela se lê, além de algumas das referências bibliográficas aqui feitas, a primeira notícia da existência do *Coccidophilus citricola* no Brasil. Pela mesma se verifica que COMPERE o encontrou em 1934 nos arredores do Rio de Janeiro, sendo, então, remetido para Riverside (California) e aí criado, não só na Citrus Experiment Station, como em insectários de outras instituições que cooperam com aquela Estação, usando-se o método de criação intensiva de BAUMGARDNER, sumariamente descrito no trabalho de FLANDERS.

Fig. 1 — *Coccidophilus citricola Brèthes* (tamanho natural: 1,25 mm.)

Após uma diagnose abreviada da espécie, FLANDERS comunica as seguintes observações etológicas:

> "Oviposition commences within five days after emergence; the eggs are placed beneath the covering of the scale insect. They are translucent yellow and the corion is delicate and flexible.
>
> At 80 F the incubation period is eight or nine days, the ocelli of the embryo becoming visible two days before hatching.
>
> The newly hatched larva has a brown, flat body, finely pubescent, and the head is black. The terminal segments of the abdomen are hairy. The first thoraxic segment is light brown or gray, with two black patches. The legs are lighter in color, with black knees. The larvae cease feeding after 10 days. Then they are somewhat pear shaped, tapering toward the head and appear to be dark velvety brown. Under the microscope the epidermis is found to be covered with minute "ro-

settes", each consisting of five to seven spines. A few long hairs are scattered over the body.

The entire larval stage extends over a period of 13 to 20 days. At the end of this period they seek crevices in which to pupate.

The pupa is yellowish brown and very hairy. Several days after pupation each hair bears a globule at the tip. The pupal period of five days is comparatively short.

Both adult and larva when disturbed tend to adhere to the host plant with adhesive anal discs. At a temperature between 75° and 85° F, the life cycle is 27 to 35 days."

Relativamente à posição sistemática de *Coccidophilus,* devo dizer o que se segue:

No Zoological Record, correspondente ao ano de 1905, o novo gênero e a nova espécie de Coleoptero Argentino são mencionados na parte referente à família *Lathridiidae*.

Provavelmente o autor da classificação baseou-se na informação de BRÈTHES de se tratar de um Clavicórnio "tendo alguma relação com o gênero *Fallia*", o qual fora incluido por SHARP na família *Lathridiidae,* embora já indicando a afinidade do mesmo com *Discolominae*.

Convem recordar que houve uma época em que *Colydiidae* abrangia, além dos Colidiideos típicos, as espécies que atualmente constituem as famílias *Lathridiidae* e *Discolomidae*.

Não é, pois, de estranhar que ainda hoje se considere *Coccidophilus* em *Lathridiidae,* como o fez recentemente CLAUSEN em seu utilíssimo livro "Entomophagous insects".

Se não me engano, foi BRUCH (1914) quem, pela primeira vez, classificou o inseto em *Discolomidae*.

LIZER, ao descrever a nova variedade de *Coccidophilus citricola* (*rufus*), considerou-a tambem nessa família.

FLANDERS transcreve, à respeito, a seguinte informação de VAN DYKE:

"While the monotypical genus *Coccidophilus* is placed in the family Discolomidae, this is itself but little more than a subfamily of the Colydidae. The family Discolomidae structurally diverges somewhat from the Colydidae and approaches the Coccinellidae.

All members of the family Colydidae are either predacious or fungivorous, none phytophagous, and no doubt the members of this subfamily show the same habits".

De acordo com VAN DYKE, quanto ao que êle diz relativo à família *Discolomidae,* considero, porém, *Coccidophilus* um verdadeiro Coccinelideo, discordando, portanto, da opinião dos autores que o estudaram.

Em geral, nas chaves de Coleoptera, as duas famílias próximas, *Discolomidae* e *Coccinellidae,* separam-se pelo aspecto dos tarsos: *Coccinellidae* com tarsos pseudotrímeros ou criptotetrâmeros e *Discolomidae*

com tarsos exclusivamente de 3 segmentos. Ora, em *Coccidophilus* ha sómente 3 artículos tarsais, porque o pretarso, ou artículo portador das garras, não é separado do 2.º artículo por um 3.º muito pequeno, como sóe dar-se em quase todos os *Coccinellidae*.

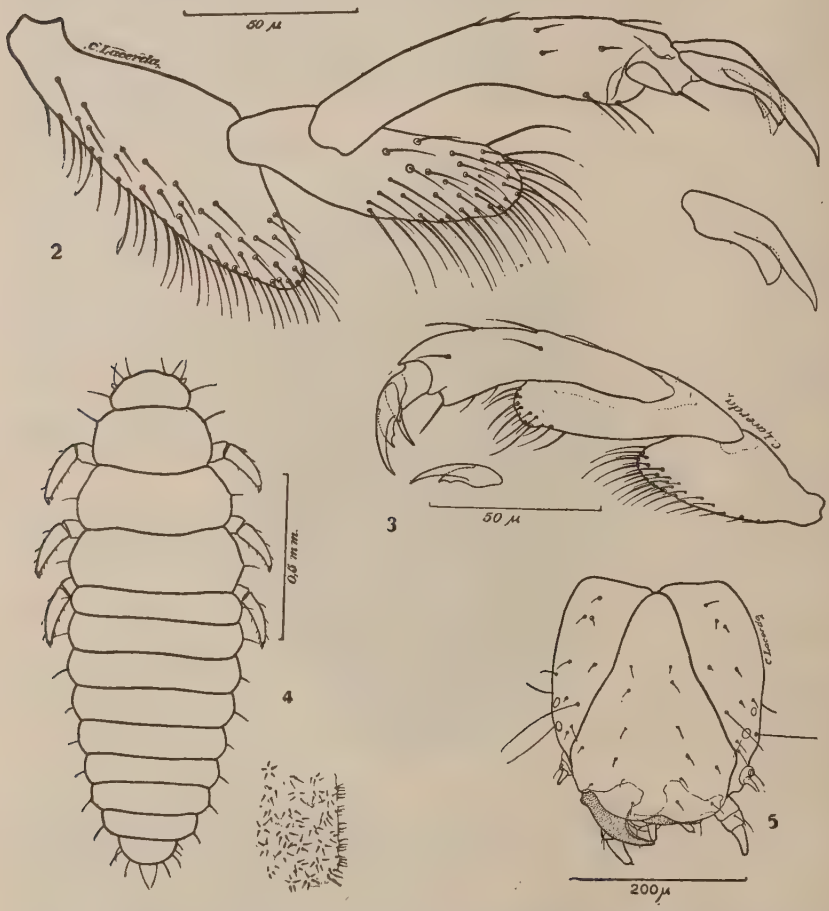


Fig. 2 — Tarso de um *Scymnini;* fig. 3 — tarso de *Coccidophilus citricola;* fig. 4 — larva de *Coccidophilus citricola,* ao lado, aspecto do tegumento visto com forte aumento; fig. 5 — cabeça da larva de *Coccidophilus citricola* (consideravelmente aumentada).

Dever-se-ia, pois, classificar o gênero em questão em *Discolomidae*.

Todavia, convem lembrar que tal aspecto tambem se observa em alguns Coccinelideos.

Na figura 2, vê-se o tarso de um representante da tribu *Scymnini* com 3 artículos tarsais apenas. E se nêle as garras são distintamente apendiculadas, diferindo um pouco das de *Coccidophilus* (fig. 3), por

terem o apêndice menos desenvolvido, convem ponderar que há espécies de *Pentiliini* cujas garras são simples.

O metasterno, os metepímeros e quadris posteriores, em *Coccidophilus,* pouco ou nada diferem do que se observa naquele representante de *Scymnini*.

Ademais, *Coccidophilus* exibe dois caracteres peculiares a *Coccinelidae*: um, observado em quase todos êles, consiste na presença de linhas curvas post-coxais, no metasterno e no 1.º urosternito; o outro, observado nos gêneros precisamente mais próximos de *Coccidophilus,* é representado por uma linha obliqua muito fina, que se destaca da borda lateral e vem terminar na borda anterior do pronoto, limitando uma área triangular nos ângulos apicais.

Observa-se êste carater em *Microweisea* Cockerell, 1903 (considerado por KORSCHEFSKY (Coleopt. Catal.) sinônimo de *Pentilia* Mulsant, 1850) e em *Pseudosmilia* Brèthes, 1924.

O interessante é que os caracteres estruturais da larva de *Coccidophilus* (figs. 4 e 5) tambem o aproximam muito de *Microweisea,* a julgar pela descrição da larva de *Microweisea misella* (J. Lec, 1878) feita por GAGE.

E' pena que BRÈTHES, ao estudar em 1924 o seu novo gênero *Pseudosmilia,* considerando-o mui acertadamente um Coccinelideo visinho de *Microweisea,* não se tenha lembrado de *Coccidophilus,* que descrevera 19 anos antes, evidentemente mais próximo de *Pseudosmilia* que aquele gênero.

Com efeito, se *Pseudosmilia,* segundo BRÈTHES, difere de *Microweisea* por apresentar a clava antenal biarticulada, o último artículo dos palpos maxilares cônico, as linhas abdominais (arcos metacoxais) atingindo a margem apical do 1.º urosternito aproximadamente na união do quarto externo com os dois quartos internos e as garras apendiculadas na base, por nenhum dêsses caracteres se distingue de *Coccidophilus*.

Realmente, comparando-se a descrição de *Pseudosmilia arrowi* Brèthes 1924 com *Coccidophilus citricola,* tem-se a impressão de serem espécies do mesmo gênero.

Pelo exposto, devo concluir que o gênero *Coccidophilus,* extremamente próximo, ou talvez idêntico a *Pseudosmilia,* já considerado por BRÈTHES como Coccinelideo próximo de *Microweisea,* e como tal incluido por KORSCHEFSKY na tribu *Pentiliini* (*Microweiseini*), deve ser tambem incluido nesta tribu.

As conclusões que acabo de expôr resultam do exame de alguns exemplares de *Coccidophilus citricola,* que me foram enviados para determinação pelo Eng.º Agr.º HELIO LEPAGE, do Instituto Biológico de São Paulo, onde esta "joaninha" é um dos mais eficientes predadores de *Aonidiella aurantii*.

Ulteriormente, o Eng.º Agr.º ARISTOTELES SILVA ofereceu-me adultos e larvas da mesma "joaninha", apanhados em Guaratiba (D. Federal), atacando *Pseudaulacaspis pentagona*.

BIBLIOGRAFIA

AUTRAN, E., 1907, Las cochinilhas Argentinas. *Trab. Mus. Farmacol. Fac. Cien. Med. Buenos Aires,* 18: 58 pp.

BARTLETT, K. A., 1938, The introduction and colonisation in Puerto Rico of predatory beetles which attack coconutscales. *Puerto Rico Exp. Sta. Agric.*, Notes n.º 84.

BERTONI, A. de W., 1923, Principales enemigos de los coccidos importados observados en Asuncion. *Rev. Soc. Cient. Paraguay,* 1: 53-55.

BLANCHARD, E. E., 1922, Principales cochinilhas de los Citrus en Argentina. Primeira parte: Coccidos protegidos. *Bol. Minist. Agric. Nacion,* 27: 387-398, 1 est.

BRÈTHES, J., 1905, Descripcion de un género y de una nueva especie de Clavicornio de Buenos Aires (Coleóptero), *An. Soc. Cient. Argent.*, 59: 76-79, 8 figs.

BRÈTHES, J., 1924, Sur une collection de Coccinelides (et un Phalacridae) du British Museum. *An. Mus. Nac. Hist. Nat., Buenos Aires,* 33: 145-175, 15 figs.

BRUCH, C., 1914, Catálogo sistematico de los Coleópteros de la República Argentina. Pars III. *Rev. Mus. La Plata,* 19: 303-339.

CASEY, T. L., 1899, A revision of the American Coccinellidae. *J. N. Y. Ent. Soc.*, 7: 71-169.

ELGUETA, N., 1932, Un enemigo de la escama roja. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, 36: 85.

FLANDERS, S. E., 1936, Coccidophilus citricola Brèthes, a predator enemy of red and purple scales. *J. Econ. Ent.*, 29: 1023-1024.

GAGE, J. H., 1921, The larvae of the Coccinellidae. *Ill. Biol. Monogr.*, 6: 239-284, 6 ests.

LIZER, C., 1915, Une nouvelle variété de Discolomide (Col.) de L'Amerique Méridionale: "Coccidophilus citricola" Brèthes, v. nov. "rufus", *Physis,* 2:43.

LIZER, C., 1920, Principales Cóccidos que atacan a las plantas cultivadas en la República Argentina. *Sep. da Rev. C.E. de Agr. y Vet.* 11 (95) e 12 (96-97).

PORTER, C. E., 1913, Notas para la zoologia economica de Chile. IV. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, 17: 98-99.

SALVADORES, A. Z., 1913, El durazno. *Bol. Minist. Agric., Buenos Aires,* 33 p., 56 figs., 17 ests.

SANTIS, L. de, 1936, Una cochinilla argentina poco conocida "Protargionia larreae", Leonardi. *Rev. Fac. Agr. La Plata,* (3) 21: 225-240, 5 figs., 1 est.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 415-416
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

CONSERVAÇÃO DE CULTURAS BACTERIANAS [1]

GENESIO PACHECO e LIVIO RENAULT
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

Pacheco & Araujo Costa propuzeram anteriormente um dispositivo econômico para conservação de culturas bacterianas pelo dessecamento. Na utilização desse processo verificamos não ser êle universal para todas as bactérias. Algumas espécies bacterianas Gram negativas, particularmente gonococos e meningococos, tiveram curta sobrevida, assim conservadas, mesmo utilizando outros coloides protetores dos corpos bacterianos, além de sôro normal. Não havendo esperanças de conservá-las desse modo, voltamos aos meios de cultura, pelos quais já se tem conseguido algum resultado.

Aproveitando uma sugestão de St. John-Brooks & Rhodes, em que referem bons resultados com o emprego de um agar-sôro com proteose-peptona Difco, sem mais pormenores quanto à composição, preparámos um meio no qual aqueles dois germens cresceram facil e abundantemente e no qual se mantiveram vivos em condições inesperadas, como à temperatura ambiente.

E' a seguinte a fórmula do meio:

Agua de carne	100,0 cc.
Agar	0,4 g.
Proteose-peptona Difco	6,0 g.
Ascite	30,0 cc.

Ajustar o pH entre 7,4 e 7,6 e distribuir 2 cc. em tubos de hemólise, ficando o meio de consistência semi-sólida.

Um lote de 4 amostras de *Neisseria intracellularis* foi semeado em 27 de Maio de 1941. Após 24 hs. de incubação a 37° para crescimento, foram recobertas de parafina esteril para evitar o dessecamento, e conservadas em armário, à temperatura ambiente. Mantidas nessas condições, permanecem vivas em 6 de Setembro, quase 3 mêses e meio depois de semeadas.

Um lote maior, composto de 35 amostras diversas desse mesmo microorganismo, foi semeado como acima e mantido a 37° durante 4 meses. Após este tempo, estavam vivas 30 delas.

---

[1] Recebido para publicação a 22 de Setembro de 1941.
Trabalho da Seção de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz.

Provamos a sobrevivência da *Neisseria gonorrhoeae* assim: 5 amostras foram semeadas em 3 tubos cada uma. Depois de 24 hs. de incubação a 37° e de terem sido recobertas com parafina, após o crescimento, como para as culturas de meningococos, foram divididas em 3 grupos: 1 tubo de cada amostra para conservação a 37°, outro à temperatura ambiente e o terceiro em geladeira. Verificamos que as do último grupo, isto é, as culturas conservadas na geladeira, haviam morrido em menos de 3 dias. As culturas conservadas a 37° comportaram-se do seguinte modo: 1 morreu com 1 mês e 20 dias; 1 ao cabo de 2 mêses e 10 dias; quanto às outras, 2 permanecem vivas ao fim de 1 mês e 20 dias, e a quarta apresenta sub-culturas positivas decorridos 4 mêses e meio.

Das culturas mantidas à temperatura ambiente 1 morreu ao fim de 2 mêses e 10 dias; 1 ao cabo de 1 mês; as restantes conservam-se vivas decorridos 1 mês e 29 dias, 3 mêses, e 4 mêses e meio, respectivamente, continuando, como todas as outras que sobreviveram, ainda em observação.

Não se tratava de uma sobrevivência precária, porque, tocada a superfície de uma placa de agar-sangue com a cultura, e espalhada, dava crescimento abundante de colônias.

Parece-nos ser o meio realmente vantajoso, porque é sabido que as culturas de gonococos morrem em horas quando retiradas da temperatura de 37° e trazidas à do ambiente. Esta entre nós oscila de ordinário entre 15° e 25° nos mêses mais frios, não sendo a temperatura a 37° tão importante como se julgava, pelo menos para o gonococo, estabelecido como fôra que, abaixo desta, êste germe morria em curto espaço de tempo.

Representa o meio um progresso na conservação dessas duas bacterias, muito exigentes para sua viabilidade em condições artificiais. Demais, utilizado em pequenas quantidades como fizemos, representa vantagem econômica para a conservação.

Presta-se o meio à conservação de outras bacterias, como o pneumococo, assunto sôbre o qual o Dr. SUÁREZ MORALES fará uma publicação em outro local.

SUMMARY

Utilizing a semi-solid medium with Difco proteose-peptone and ascitic fluid, protected by paraffin oil from drying, for preservation of *Neisseria intracellularis* and *Neisseria gonorrhoeae*, the authors have got the viability of these bacteria up to 3 months and a half. Comparing ice-box temperature, laboratory temperature and 37° C. temperature, they have come to the conclusion that only the first is unfavourable to preservation, while the other two have no influence at all.

BIBLIOGRAFIA

BROOKS, R. St. JOHN & RHODES, M., 1937, Some useful media for the preservation of stock culture. Notes on high vacuum desiccation, *Second Int. Congr. Microb.*, Londres, (cf. p. 43).

PACHECO, G. & ARAÚJO COSTA, G., 1940, Conservação de bacterias pelo dessecamento, *O Hospital*, 17: 215-226.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 417-420
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

SENSIBILIDADE DO PINTO AO VIRUS RÁBICO [1]

GENESIO PACHECO e ISAAC MOUSSATCHÉ
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 2 figuras no texto)

Fôra observado anteriormente que as aves são sensiveis ao virus rábico. Mostraram as experiências discrepâncias na receptividade, denunciadora de certa resistência por parte delas ao virus rábico. Imaginamos que as aves novas talvez fossem mais sensiveis, como o são em geral os animais jovens aos agentes infectantes, cuja resistência é sempre inferior à do adulto.

TÉCNICA

Começamos a experimentar com raiva bovina, que vimos estudando desde algum tempo. A inoculação não apresenta dificuldades: preparada uma suspensão de cérebro infectante a 10 % em água fisiológica, deixa-se depositar um pouco ou passa-se em gaze para eliminar os grumos mais grosseiros. Com seringa centesimal, adaptada agulha curta como a de provas intradérmicas, perfura-se a tábua da calota craneana, e logo que esta seja transpassada injetam-se 0,05 a 0,1 cc. da suspensão de cérebro. Não é necessária anestesia contensora.

Experiência 1 — 12-11-940: Suspensão de cérebro de coelho apresentando paralisia e inoculado com raiva de origem *bovina* (amostra de Santa Catarina), é inoculada no cérebro de 2 pintos de uma semana de idade, de raça Leghorn, numerados 1 e 2. O pinto n.º 1 apresentou alterações em 28-11-940, 16 dias após a inoculação, morrendo paralítico três dias depois. O n.º 2 teve sintomas com 19 dias e foi sacrificado no dia seguinte, em 1-12-940. Com cérebro desta ave foram feitas passagens em três outros pintos da mesma idade, de n.ºs 3, 4 e 5. Destes, o n.º 3 se apresentou parético após 17 dias e paralítico no dia subsequente; o n.º 4 adoeceu no 18.º dia, sendo sacrificado dois dias após; o n.º 5 adoeceu após 22 dias de inoculação, permanecendo paralítico até 47 dias após inoculação, quando morre.

Experiência 2 — 3-12-940: Suspensão de *virus fixo*, amostra paralisando coelho em 7 dias, obtida do Hospital Veterinário da Prefeitura. Previamente foi

---

[1] Recebido para publicação a 22 de Setembro de 1941.
Trabalho da Seção de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz.

praticada passagem em coelho, no qual determinava paralisia em 6 dias e morte 2 a 3 após. Foram inoculados 2 pintos. Um apresenta paresia com 7 dias, a qual foi se acentuando, até determinar a morte no 15.º dia. O outro adoece com 8 dias e morre paralítico nove dias depois de doente, ou seja, com 17 dias de inoculação.

Experiência 3 — 28-2-941: Suspensão de *virus de rua,* amostra obtida do Hospital Veterinário da Prefeitura, com duas passagens prévias em coelho, causando paralisia em 15 dias. Inoculados 5 pintos, numerados de 1 a 5. O n.º 1 amanheceu morto passados 5 dias, sem ter apresentado sintomas durante esse tempo. O n.º 2 ficou triste 20 dias depois da inoculação. Não consegue beber, mesmo quando forçado a fazê-lo, e apresenta início de paralisia, que no dia seguinte está generalizada; morre 5 dias após. O pinto n.º 3 ficou paralítico 21 dias depois de inoculado e morre 5 dias mais tarde. O pinto n.º 4 morre paralítico com 31 dias e o n.º 5 apresentou paralisia com 31 dias, e morreu com 40.

Experiência 4 — 3-3-940: Suspensão de cérebro de coelho com raiva de *origem bovina,* amostra n.º 4, recebida da Bolívia, gentilmente enviada pelo Dr. Alvaro Salles. Passada no coelho n.º 54, produziu paralisia em 10 dias, sendo o animal sacrificado. Inoculados 10 pintos com cérebro deste coelho, ao mesmo tempo que o coelho n.º 62, iniciou-se neste a paralisia aos 14 dias, morrendo êle três dias após, com todos os sintomas de raiva experimental em coelho. Dos pintos inoculados adoeceu um com paralisia após 18 dias, morrendo 2 dias depois de doente. O outro adoece com 20 dias e morre com 6 de doença. Um terceiro tornou-se paralítico com 31 dias e morreu 9 dias após o aparecimento da paralisia. Os demais tiveram infecção intercurrente (cara inchada) e morreram antes do aparecimento de raiva.

SINTOMAS

Interessantes foram os sinais apresentados. Inicialmente os pintos mostram certa impotência muscular das patas. Caem atôa, sem motivo justificado, enquanto seus movimentos são ainda ativos em relação às testemunhas. Deitam sôbre as pernas em flexão e logo se levantam.

Pinto inoculado com virus rábico — Fig. 1: paralisia das pernas; fig. 2: paralisia generalisada e torpor.

Outras vezes abrem as pernas para aumentar a base de sustentação na posição estática, ou retardam a marcha em relação aos pintos normais. Não raro iniciam-se os sintomas por certa incoordenação na marcha, que apresenta passo tardo ou arrítmico. Movimentos às vezes mais ativos que as testemunhas, beliscando a alimentação a toda hora, sem conseguir colhê-la, entretanto. No dia ou dias seguintes a êstes

nota-se paresia que se acentúa até permanecerem deitados. Surgem tremores musculares, diminue ou cessa o apetite, anus com matéria fecal aderente, emagrecimento. Não se tornam agressivos, quando muito inquietos. Por fim ficam sonolentos e até as asas ficam paralisadas.

Experimentamos inocular em pintos encéfalo-mielite equina, afecção confundivel com a raiva bovina, quando esta ataca o cavalo. A amostra 3.522, tipo Oeste americano, enviada por BAUER, da Rockefeller Foundation, não deu infecção.

Não dispuzemos de virus de pseudo-raiva para provas.

COMENTÁRIOS

Vários pesquizadores conseguiram infectar aves com virus rábico. REMLINGER & BAILLY descrevem os sintomas de raiva observados nas aves, a qual se apresenta sob a forma mixta, furiosa e paralítica. Segundo sua opinião, as aves devem ser filiadas aos animais refratários à doença, em vista da irregularidade da infecção. Entre elas são receptiveis o pombo e o galo, observando-se com frequência nesses animais infecção inaparente, curavel muitas vezes, permanecendo entretanto o virus na massa nervosa muito tempo. VEERARAGHARAN & PHILIPSZ referem resultados irregulares de infecção em aves, obtidos por LUBINSKI & PRAUSNITZ, e uma observação de VAN LOTE de raiva em galinha. VEERARAGHARAN & PHILIPSZ por sua vez infectaram galinhas por inoculação em série, tendo conseguido fixar o virus de rua, que, infectando à princípio em 29 dias, foi reduzindo paulatinamente o tempo de incubação até fixar-se em 2, a partir da 15.ª passagem em galinha.

Em nossas experiências os pintos mostraram-se regularmente sensiveis ao virus rábico, seja fixo, seja aos virus de rua e bovino. Diferenças foram notadas quanto ao tempo de incubação da doença experimental. Adoeceram os pintos inoculados com virus bovino e com o de rua, entre 17 a 20 dias ou mais tarde, morrendo dentro de 3 a 5 depois do aparecimento dos sintomas de paralisia. Com o virus fixo o período incubatório foi curto como no coelho, mas os animais levaram mais tempo para morrer, tal qual sucede com êste. Curioso é que as experiências de VEERARAGHARAN & PHILIPSZ com virus fixo em galinha deram resultados justamente opostos aos nossos, isto é, houve consideravel prolongamento do tempo de incubação, que de 29 dias com virus de rua (de chacal), passou a 8 e 11 mêses nas duas galinhas experimentadas por êles com virus fixo. Em todo caso esta discrepância se ajusta às verificações de REMLINGER & BAILLY, referidas acima, da grande demora ou às vezes mesmo inaparência na infecção do galo com o virus rábico. Observamos nos pintos os mesmos sintomas de incoordenação de REMLINGER & BAILLY em galos.

Tendo conseguido nos pintos infecção por via cerebral em 100 % dos animais inoculados, tão regularmente como em coelhos, podemos concluir serem igualmente sensiveis à raiva. Não tendo apurado se os

pintos se prestam a outras provas, como experiências de vacinação, imunidade e dosagem de virulência, a serem verificadas, nem sejam mais sensiveis que os coelhos, apresentam contudo vantagens significativas sôbre êstes quanto ao uso no diagnóstico de raiva, mormente nos locais distantes dos laboratórios: baixo preço e extrema facilidade de manejá-los. Com efeito, a remessa de cérebro infectado à distância apresenta dificuldades, representadas pelo perigo e pela carência de embalagens apropriadas, mormente no campo, onde ocorrem casos muitas vezes. Um fragmento de cérebro, esmagado em água fervida e resfriada, póde ser inoculado mesmo *in loco* com seringa comum de injeção. A tábua craneana do pinto é fragil como casca de ovo e a contensão da ave é facílima, dispensando anestesia. Os animais podem ser observados no local até apresentarem paralisia, ou serem enviados à distância, porque os pintos recemnascidos suportam longas viagens sem comer e o virus nêles inoculado não corre o risco de morrer.

No caso de doença paralítica em boi, haveria possibilidade de se tratar de pseudo-raiva. Não pudemos esclarecer êste ponto, sendo, aliás, a diferenciação entre esta afecção e a raiva clinicamente facil.

Outro virus a considerar na sensibilidade dos pintos seria a encéfalomielite equina, quando o material inoculado é proveniente de cavalo. Mas com muita dificuldade conseguiu OLITSKY infectar pintos com êste virus, assim mesmo empregando 1 a 10 milhões de doses infectantes para camondongos, inoculadas por via cerebral. Demais, os sintomas observados eram muito diferentes dos encontrados por nós: ataque súbito, prostração, contraturas rápidas e gritos estridentes, logo seguidos de coma e morte, no mesmo dia do aparecimento dos primeiros sintomas. Tambem o período incubatório foi sempre curto (3 a 4 dias), o que não se observa na raiva dos pintos.

RESUMO

Pintos mostraram-se regularmente sensiveis ao virus rábico pela inoculação intracerebral. Após período incubatório de 25 a 30 dias, apresentam sintomas que progridem até a paralisia, seguida de morte 3-5 dias depois.

Sendo tão sensiveis como coelhos e camondongos, prestam-se ao diagnóstico de raiva com evidentes vantagens do ponto de vista econômico e de facilidade de manejo em relação a outros animais usualmente empregados.

ABSTRACT

Chicken showed themselves 100 % sensible to intracerebral inoculation of rabies virus. After a 25-to-30-day incubatory period symptoms appeared which made their way to paralysis and death in a 3-to-5-day period.

As chicken are as sensible as rabbits and mice they can be used for rabies diagnosis at a lower cost, besides being more easily handled than other animals.

BIBLIOGRAFIA

OLITZKY, P. K., 1939, Experimental Studies on the virus of infections avian encephalomyelitis, *J. Exp. Med.*, 70: 565-582.

REMLINGER, P. & BAILLY, J., 1938, *Études sur la rage*, Monogr. Inst. Pasteur, Paris.

VEERARAGHARAN, N. & PHILIPSZ, 1940, The Susceptibility of Domestic fowls to a Strain of rabies Virus obtained from a Jackal, *Ind. J. Med. Res.*, 28: 81-90.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 421-422
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

NOTA SOBRE BACTERIOFAGIA [1]

GOBERT ARAUJO COSTA
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

As condições físicas do intestino, onde evolue e atua o bacteriófago, são muito próximas da anaerobiose. De referência à bacteriofagia em anaerobiose, D'HERELLE assinala apenas a indiferença sôbre o fenômeno, sem detalhes das experiências. WOLLSTEIN, estudando um bacteriófago antidisentérico, refere existência de lise de cultura em caldo sob camada de vaselina e com pedaços de rim de coelho, portanto em condições de anaerobiose parcial. Nenhum deles cuidou da dosagem dos bacteriófagos usados, carecendo os resultados de uma verificação mais apurada. Procuramos analisar o fenômeno, a vêr se havia aumento ou diminuição nas atividades líticas dos bacteriófagos em anaerobiose, com a idéia de nos aproximarmos das condições naturais.

Utilisamos de preferência bacteriófagos para germens intestinais de elevado poder lítico e com as seguintes indicações:

Bacteriófagos:	Anti-Flexner — Sh. 87 dosando até	10^{-8}
	Anti-Flexner — Sh. 638 dosando até	10^{-8}
	Anti-Shiga — Sh. 94 dosando até	10^{-8}
	Anti-coli — Col. 556 dosando até	10^{-9}
	Anti-tifico — S. 901 (var. 0) dosando até	10^{-9}
	Anti-estafilococo — Sta. 553 dosando até	10^{-8}

Colocávamos 0,5 cc. dêstes bacteriófagos em culturas recentes, ligeiramente turvas, deixando testemunhas sem bacteriófago, e submetemos as misturas a vácuo de 700 mm. Hg. Procedíamos à leitura com 24 hs. em comparação com bacteriófagos deixados fóra da estufa. A lise foi total nas culturas semeadas com bacteriófagos, conservados dentro e fóra do vácuo.

Resolvemos proceder a outra experiência tendo em vista perda ou aumento possivel de virulência do bacteriófago em anaerobiose. Dos bacteriófagos acima enumerados, com as respectivas dosagens, eram feitas diluições sucessivas em meios semeados com as culturas sensiveis, deixando um tubo testemunha sem o agente lítico. Colocávamos as

[1] Recebido para publicação a 23 de Setembro de 1941.
Trabalho do Laboratório de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz.

diluições na estufa a 37° em vácuo de 700 mm de Hg. Leitura feita com 24 e 48 hs. O quadro abaixo mostra os resultados:

BACTERIÓFAGOS

Amostras	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}	horas
Sh.87	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	24
	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	48
Sh.638	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	24
	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	48
Sh.94	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	24
	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	48
Col. 556	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	24
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	48
S. 901	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	24
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	48
Sta. 553	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	24
	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	48

Notações: + Lise completa
— Ausência de lise

A dosagem foi testemunhada, não tendo havido diferença nos resultados. As culturas testemunhas cresceram bem nas condições de anaerobiose acima referidas.

Conclusões — 1) Anaerobiose não interfere no fenômeno da lise pelo bacteriófago; 2) A atividade do bacteriófago não sofreu alterações.

SUMMARY

1) Anaerobiosis does not interfere with the lytic phenomenon produced by the bacteriophage.

2) The activity of the bacteriophage does not undergo any changes under conditions of anaerobiosis.

LITERATURA

D'HERELLE, F., 1921, *Le Bacteriophage son rôle dans l'immunité,* Paris, Masson et Cie. Editeurs.

D'HERELLE, F., 1926, *The Bacteriophage and its behavior,* Baltimore, Williams & Wilkins.

WOLLSTEIN, M., 1921, Studies on the phenomenon of D'Herelle with Bacillus dysenteriae, *J. Exper. Med.*, 34: 467-476.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 423-429
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

DADOS BIONÔMICOS SÔBRE O "PHLEBOTOMUS FISCHERI" PINTO, 1926 (Diptera, Psychodidae) [1]

J. O. COUTINHO e M. PEREIRA BARRETTO
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Pinto (1926) (1) descreveu o *Phlebotomus fischeri* de material capturado na Capital de São Paulo. Coutinho e Barretto (1940) (2) separaram de *P. fischeri* uma espécie muito próxima que denominaram *P. pessôai,* espécie esta incidente em muitas localidades do interior do Estado de São Paulo, e que até então, havia sido confundida com *P. fischeri.*

Assim sendo, os poucos dados existentes na literatura sôbre a biologia dêste flebótomo devem ser tomados com certa reserva. Efetivamente as observações feitas por Primio (1932) (3); (1937) (4); (1938) (5) tanto podem se referir a *P. fischeri* como a *P. pessôai.* Temos a impressão mesmo de que êste autor trabalhou com o *P. pessôai,* uma vez que, em sua tése de concurso para Prof. da Faculdade de Medicina do Rio Grande do Sul, publicou microfotografia da espermateca que seguramente é de *P. pessôai.* As observações de Galvão & Coutinho (1940) (6) sôbre *P. fischeri* se referem tambem a *P. pessôai;* tivemos a oportunidade de rever parte do material que serviu para os estudos dêstes autores, e verificar que êle é constituido quasi que exclusivamente por êste flebótomo. Em abundante material da mesma procedência, capturado posteriormente, raros foram os exemplares de *P. fischeri* encontrados. Restam pois, como únicos dados positivos as observações de Pinto (1930) (7) e de Fonseca (1936) (8) sôbre a incidência desta espécie na Capital de São Paulo.

Interessa-nos no momento a distribuição do *P. fischeri* no Estado de São Paulo, em particular a relação de sua incidência com a presença da leishmaniose cutâneo-mucosa.

---

[1] Recebido para publicação a 29 de Setembro de 1941.
Trabalho do Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Diretor: Prof. Samuel Barnsley Pessôa).

Examinando material de diferentes procedências pudemos assinalar a presença do *P. fischeri* nas seguintes localidades do Estado e com as respectivas datas de capturas:

Capital: XII-1939, I-1940, II-1940, III-1940, IV-1940, V-1940, VI-1940, VIII-1940, IX-1940, X-1940, XI-1940, XII-1940, I-1941; São José dos Campos: X-1940; Pirituba: X-1940; Martinopolis: VIII-1940; Itaporanga: Núcleo Colonial Barão de Antonina: XII-1940; Pompeia: XI-1939, XII-1939, II-1940; Casa Grande: XII-1940; Mogí das Cruzes: XII-1940; Pindamonhangaba: X-1940; Juquiá: I-1941; Osasco: I-1941; Catanduva: III-1941; Luiz Barretto: 1941.

Destas 12 localidades apenas duas se encontram na região de alta endemicidade da leishmaniose cutâneo-mucosa, região florestal em desbravamento, situada entre os rios Tieté e Paranapanema, [Pessôa & Pestana, (1940) (9)]. São elas Pompeia, situada na Alta Paulista e Martinópolis, situada na Alta Sorocabana. Nestas localidades, aliás o *P. fischeri* ocorre em percentagem mínima, sendo acidental a sua presença nas capturas, durante todo o ano. A sua fauna flebotômica, assim como das demais localidades daquela região, é constituida quasi que exclusivamente pelo *P. pessôai,* pelo *P. whitmani* e pelo *P. migonei,* espécies vetoras da moléstia. Já nas zonas de baixa endemicidade da leishmaniose cutâneo-mucosa e nas regiões onde a moléstia ocorre de maneira esporádica ou é desconhecida, o *P. fischeri* aparece sempre, sendo em muitas delas a espécie dominante da fauna flebotômica.

Qual a razão desta diferente distribuição? Observando a situação geográfica das localidades onde o *P. fischeri* ocorre, vamos verificar que quasi todas elas se acham fora das regiões florestais, das chamadas zonas de mata.

O *P. fischeri* é quasi sempre capturado em capoeiras e pequenas matas que existem nas regiões desbravadas há muito tempo. Será, então, o *P. fischeri* uma espécie que, originariamente silvestre, se encontra em fase de adaptação à vida domiciliária e peridomiciliária? Estará sucedendo com esta espécie o que aconteceu, por exemplo com espécies constitutivas da fauna da África do Norte?

Aliás, o *P. fischeri* ocorre em maior proporção em capoeiras nas proximidades ou dentro das quais existam habitações, permanecendo mesmo, durante todo o dia, no interior das casas onde póde ser capturado nos recantos húmidos e escuros, como veremos adiante. E' uma questão aberta e somente futuras investigações poderão resolvê-la.

Biologia do adulto — Desde dezembro de 1939 à esta data, há mais de um ano portanto, vimos fazendo capturas, sistemáticas de flebótomos nos arredores da Cidade de São Paulo, onde o *P. fischeri* é a espécie dominante da fauna flebotômica durante todo o ano.

Em matas e capoeiras as capturas foram sempre realizadas com isca humana, com armadilha de Shannon luminosa, Barretto e Coutinho (1940) (10) ou com armadilha com isca de cão.

Nas habitações humanas ou de animais, os flebótomos foram capturados pousados em paredes iluminadas ou quando procuravam picar o homem ou os animais.

Capturas foram tambem efetuadas durante o dia, visando surpreender os flebótomos em vôo ou em seus abrigos.

Foram realizadas 57 capturas, que deram um total de 3.031 flebótomos distribuidos pelas espécies seguintes e com as respectivas percentagens.

FLEBOTOMOS CAPTURADOS DURANTE UM ANO NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO

TOTAL E PERCENTAGEM POR ESPÉCIE

	Total	%
P. fischeri	2.382	78,59
P. arthuri	368	12,14
P. lloydi	116	3,80
P. intermedius	53	1,75
P. limai	25	0,80
P. monticolus	26	0,85
P. migonei	13	0,42
P. alphabeticus	11	0,36
P. ayrozai	9	0,30
P. pestanai	8	0,27
P. pascalei	4	0,13
P. sp.	4	0,13
P. sp.	1	0,03
P. davisi	6	0,19
P. whitmani	3	3,09
P. nitzulescui	1	0,03
P. mangabeirai	1	0,03

Assim pudemos colher certo número de dados que passaremos a expor.

O *P. fischeri* ocorre durante todo o ano, tanto nas capturas realizadas em mata como em habitações. E' a espécie predominante em todas as capturas, salvo raras exceções, sendo a única obtida em certas ocasiões. Sua densidade muito grande na estação das chuvas durante os mêses de outubro, novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março, diminue progressivamente no outono; mas, mesmo assim, nos mêses mais frios ou sêcos, quando as outras espécies desaparecem ou se tornam muito raras, continua a aparecer nas capturas sempre em número bastante elevado. Nestas ocasiões, aliás, os flebótomos são capturados em maior número nas proximidades de córregos ou vasantes onde as suas larvas e pupas encontram condições mais favoraveis à sua evolução.

A menor densidade durante os mêses frios e sêcos, evidentemente encontra a sua explicação na desfavorabilidade das condições de tem-

peratura e humidade. Não só o ciclo evolutivo se torna mais lento quando a temperatura se abaixa, segundo verificações em condições experimentais feitas por um de nós e ainda inéditas, mas tambem menores probabilidades têm os flebótomos de encontrar criadouro.

A ocurrência de *P. fischeri* durante todo o ano nos indica que as mínimas de temperatura reinantes em São Paulo não são suficientes para condicionar uma hibernação desta espécie, si é que ela póde hibernar.

Os dados que pudemos colher, para todo o ano de trabalho, de 1939 a 1940, em relação às temperaturas, são os seguintes:

	Média máxima mensal	Média mínima mensal	Máxima absoluta	Mínima absoluta
Janeiro	26,9	17,3	31,8	19,9
Fevereiro	28,9	17,3	31,9	15,4
Março	28,3	17,5	33,1	15,4
Abril	25,0	14,9	30,0	11,1
Maio	23,9	13,5	28,2	10,8
Junho	22,4	10,9	27,0	6,0
Julho	20,2	7,7	25,2	1,4
Agosto	25,9	9,9	30,3	2,1
Setembro	22,4	11,7	30,8	6,4
Outubro	26,3	12,5	32,2	6,9
Novembro	25,4	15,2	33,9	10,9
Dezembro	25,7	17,7	31,9	11,7

Em geral se afirma que os flebótomos se ressentem das chuvas e dos ventos, mesmo quando êstes são fracos e, por conseguinte, não podem nestas condições ser capturados fóra dos seus esconderijos. Diversas vezes, entretanto, tivemos o ensejo de capturar exemplares de *P. fischeri* e outras espécies em noites com viração ou mesmo com vento, ou em noites chuvosas (chuvas fracas ou garôa). Citamos exemplos de algumas capturas realizadas por nós em condições desfavoraveis: no dia 22-4-40 foi assinalada, tempo frio encoberto e com viração, e no dia 4-10-40 tempo frio, com chuvisco e vento fraco, na primeira foram capturados 92 espécimens sendo 87 de *P. fischeri,* 3 de *P. migonei* e 2 de *P. arthuri;* na segunda 224 espécimens sendo 214 de *P. fischeri,* 2 de *limai,* 6 de *monticolus,* 1 de *pestanai* e 1 de *whitmani.*

Maior número de espécimens é porem obtido nas noites quentes e sem viração, principalmente quando a quéda da pressão barométrica indica chuvas próximas.

Hora de atividade: O *P. fischeri* como as outras espécies pertence ao tipo de dipteros de atividade post-crepuscular, começa a voar no

começo do crepúsculo e quando reina nas matas uma semi-obscuridade, mas sua maior incidência se verifica após ao pôr do sol, quando a luminosidade do dia é nula. Após o crepúsculo mantem-se muito ativo por algumas horas, durante as quais procura as armadilhas luminosas, as habitações ou as iscas colocadas nas matas e diminue progressivamente de atividade à medida que a noite começa a esfriar, sendo daí por diante, capturados em menor número. Mas, mesmo durante o dia, nas horas de maior luminosidade e calor, podem voar: várias vezes tivemos ocasião de capturar exemplares de *P. fischeri* durante o dia, voando em lugares húmidos e sombreados, pousados em troncos de árvores ou pedras cobertas de limo e procurando picar o homem. Mas, durante o dia êles se mantêm de preferência abrigados em ôcos de pau, fendas de pedras ou em recantos escuros e húmidos de habitações (porão, dependências sanitárias, etc.).

Preferências alimentares — O *P. fischeri* é uma espécie muito antropófila, pica o homem, mesmo durante o dia, nas matas ou no interior das habitações. Em condições experimentais é uma das espécies que mais facilmente são induzidas a sugar o sangue humano. Esta grande antropofilia faz, aliás, com que procure as habitações humanas. Nas capturas domiciliares é a espécie dominante, sendo em muitas ocasiões, a única capturada no interior dos domicílios. Êste fato, aliás, já havia sido assinalado por PINTO (1930) (7) o autor da espécie. Mas ela tambem suga avidamente isca animal não só em condições naturais como em laboratório (macaco, cão, galinha, etc.).

Biologia das suas larvas e pupas — O *P. fischeri* dificilmente se cria em condições de laboratório. Embora se obtenha com facilidade grandes e numerosas oviposições de fêmeas capturadas vivas e alimentadas, poucas culturas evoluem normalmente até a fase de imago. Bom número de ovos deixa de eclodir e grande é a mortalidade das larvas, particularmente nos primeiros estádios qualquer que seja o meio de cultura empregado (terra rica em limo colhida nos locais de capturas, mistura de limo e terra, fézes de cobaia, mistura de terra e fézes de cobaia, etc.).

Demais, o ciclo evolutivo é demorado: com duração mínima, obtivemos 46 dias, mas em geral o flebótomo leva 50-60 dias para completar o ciclo (do momento da postura ao do nascimento dos adultos).

Dada a alta incidência do *P. fischeri* nas matas do Horto Florestal da Cantareira, resolvemos efetuar pesquizas no sentido de se descobrirem os seus criadouros.

Examinando a terra rica em matéria orgânica vegetal em decomposição, limo e terra proveniente de raspagem do solo, da base de troncos de árvores ou da superfície de pedras, sempre em sítios sombrios e húmidos, onde o flebótomo era capturado, encontramos, em uma ocasião (17-12-40) uma larva em 3.º estádio que colocada em meio de cultura artificial, evoluiu normalmente até adulto, dando um exem-

plar fêmea de *P. fischeri* em 13-1-41. Esta larva foi encontrada ao dissociarmos com micro-estilete, ao microscópio com pequeno poder ampliador, limo e terra de raspagem da base de uma árvore situada em lugar sombrio e húmido, nas proximidades de um pequeno ribeirão. Conservando em cristalizadores e placas de Petri contidos em câmara húmida, o material onde foi encontrada aquela larva, observamos a eclosão de um exemplar macho de *P. fischeri* a 18-1-1941.

Papel de transmissão de leishmaniose — Dada a raridade do *P. fischeri* nas zonas onde a leishmaniose cutâneo-mucosa grassa endemicamente em altas proporções, êle parece não representar papel algum na transmissão da moléstia.

Entretanto, é possivel que, no município de São Paulo, êle possa ser incriminado vetor da *Leishmania brasiliensis*. Efetivamente, casos de leishmaniose autóctones têm sido assinalados nos arredores e na cidade de São Paulo, por Neiva & Barbará (1916) (11), Romeu da Silveira (1919) (12), Montenegro (1924) (13), Lindenberg (1928) (14), Pupo (1935) (15), Pessôa & Pestana (1939) (16).

Ora, embora exista aquí o *P. intermedius* responsabilizado por Aragão (1927) (17) como vetor em um surto de leishmaniose oriundo do Rio, parece-nos mais provavel que seja o *P. fischeri* o responsavel pelos casos aparecidos na Cidade de São Paulo, porque:

1.º) O *P. intermedius* ocorre em muito pequena percentagem nos arredores de São Paulo e é pouco antropófilo.

2.º) O *P. fischeri* é a espécie dominante na fauna flebotômica, principalmente onde Pessôa & Pestana (1940) (16) descreveram casos da moléstia.

3.º) O *P. fischeri* é extremamente antropófilo.

4.º) O *P. fischeri* se infecta experimentalmente com a *Leishmania brasiliensis* segundo Pessôa & Coutinho (1941) (18).

Em todo caso, somente com maiores e mais amplas investigações futuras poderemos solucionar a questão, de modo definitivo.

RESUMO

Os AA. começam analisando a distribuição do *P. fischeri* no Estado de São Paulo e mostram que esta espécie, rara nas regiões florestais em desbravamento, onde a leishmaniose cutâneo-mucosa grassa em alta intensidade, incide com maior frequência nas zonas onde a moléstia ocorre de maneira esporádica ou é desconhecida, sendo em muitas localidades a espécie dominante da fauna flebotômica. E' capturada sempre em pequenas matas e capoeiras das regiões desbravadas há muito tempo.

Efetuando capturas sistemáticas durante todo o ano nos arredores da cidade de São Paulo onde o *P. fischeri* predomina, conseguem reunir uma série de dados sôbre sua biologia:

1) Esta espécie ocorre durante todo o ano sendo capturada, embora em menor número, mesmo nos meses mais frios e sêcos;

2) sua atividade maior se verifica após o crepúsculo, embora seja capturada a qualquer hora do dia;

3) é capturada mesmo em noites com chuva fraca ou viração forte;

4) abriga-se durante o dia em ôcos de pau, fendas de pedra, buracos do solo, recantos húmidos e sombrios de habitações do homem e dos animais;

5) é espécie muito antropófila;

6) invade com frequência os domicílios, sendo a espécie mais comum, (às vezes a única) nas capturas feitas no interior das habitações.

Pesquisando larvas e pupas na terra, em detritos orgânicos do solo, em limo e detritos orgânicos acumulados na base de árvores e sôbre pedras, etc., encontram duas larvas em 3.º estádio, em limo e detritos orgânicos provenientes da raspagem da base de uma árvore; estas larvas colocadas em meio de cultura deram origem a um casal de flebótomos.

Enfim, julgam que, em virtude da sua frequência, de sua acentuada antropofilia e de se infectar experimentalmente com a *L. brasiliensis*, o *P. fischeri* deve ser considerado como responsavel pelos casos de leishmaniose ocorridos esporadicamente na cidade de São Paulo.

BIBLIOGRAFIA

1. PINTO, C., 1926, *Phlebotomus neivai* e *Phl. fischeri* n. sp., Sôbre o aparelho espiracular dos phlebotomus e seu valor especifico. *Sc. Med., Rio de Janeiro,* 4: 320-375.
2. COUTINHO, J. O. & BARRETTO, M. P., 1940, Contribuição para o conhecimento dos flebótomos de São Paulo: *Phlebotomus fischeri,* Pinto, 1926 e *Phlebotomus pessoai,* n. sp. *Dipt. Psychodidae., Rev. Biol. Hig., S. Paulo,* 10 (2): 89-104.
3. PRIMIO, R. di, 1932, Sôbre a presença do *Phlebotomus fischeri,* Pinto, 1926, no Rio Grande do Sul, *Rev. Cursos Fac. Med. Porto Alegre,* 18 (18): 141.
4. PRIMIO, R. di, 1937, Os flebótomos do litoral do Rio Grande do Sul, *Arq. Rio Grand. Med.,* 16 (10): 475-482.
5. PRIMIO, R. di, 1938, *Reservatórios de Protozários e suas relações com os vetores.* Tese para Prof. Catedrático, Livraria Globo, Rio Grande do Sul.
6. GALVÃO, A., L. & COUTINHO, J. O., 1940, Contribuição ao estudo dos Flebótomos de São Paulo, Dip. 1ª. Nota. *Rev. Ent.,* 11 (1-2): 427-440.
7. PINTO, C., 1930, *Artrópodos Parasitas e Transmissores de Doenças,* Tomo II, Pimenta de Mello e Cia., Rio de Janeiro.
8. FONSECA, F., 1936, Flebótomos das cercanias da cidade de São Paulo, com a descrição de *Flebotomus arthuri* n. sp. e *alphabeticus* n. sp., *Rev. Ent.,* 6: 323-327.
9. PESSÔA, S. B. & PESTANA, B. R., 1940, Sôbre a disseminação da Leishmaniose Tegumentar no Estado de São Paulo, *A Folha Médica, Rio de Janeiro,* 5 Fev.
10. BARRETTO, M. P. & COUTINHO, J. O., 1940, Processos de captura, transporte, dissecção e montagem de flebótomos. *An. Fac. Med. Univ. São Paulo,* 16 (1): 173-187.
11. NEIVA, A. & BARBARÁ, B., 1916, Leishmaniose Tegumentar Americana, *1.ª Conf. Soc. Sud. Americana de Hyg. e Pathologia, Buenos Aires,* Set. 1916, p. 311.
12. SILVEIRA, R. C., 1919, *Distribuição da frequência da Leishmaniose em São Paulo.* Tese da Faculdade de Medicina de S. Paulo.
13. MONTENEGRO, J., 1924, *in* PESSÔA & PESTANA, 1939, Leishmaniose tegumentar autoctone no municicipio de São Paulo, *An. Paul. Med. Cir.,* 38 (6): 435-442.
14. LINDENBERG, A., 1924, *in* MOTA, L. C., 1924, Histopatologia da Leishmaniose Tegumentar Cutânea. *An. Fac. Med. S. Paulo,* 3: 101.
15. PUPO, A., 1935, Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana pelas injeções de Meta-arsenito de sódio, *Rev. Med. Pernambuco,* 5 (10-8): 373.
16. PESSÔA, S. B. & PESTANA, B. R., 1939, Leishmaniose Tegumentar Autoctone no município de São Paulo, *An. Paul. Med. e Cir.,* 38 (6): 435-442.
17. ARAGÃO, H. B., 1927, Palestra sôbre a Leishmaniose. *Sci. Med., Rio de Janeiro,* 5 (3): 121.
18. PESSÔA, S. B. & COUTINHO, J. O., 1941, Infecção natural e experimental dos flebótomos pela *Leishmania brasiliensis,* no Estado de São Paulo, *O Hospital,* 20 (1): 25-35.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 431-434
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

AÇÃO DOS EXTRATOS ANTI-ANÊMICOS DO FÍGADO SÔBRE O GLUTATION DO SANGUE [1]

GILBERTO G. VILLELA e MARIA ISABEL MELLO
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com uma figura no texto)

Prosseguindo no estudo da valorização biológica da atividade do princípio anti-anêmico do fígado (1), verificamos que a injeção de extratos clinicamente ativos é capaz de fazer aumentar o teôr em glutation total do sangue.

Zunz & Vesselovsky (2), bem que tenham estudado a ação de vários hormônios (adrenalina, vagotonina, pitocina, cortina) sôbre o glutation do sangue, não mencionaram os extratos anti-anêmicos. Em outras publicações, Zunz mostrou que a insulina determina elevação do glutation hemático somente depois da fase de hipoglicemia. A hiperglutationemia neste caso é de certo modo proporcional à dose de insulina injetada (3).

Os extratos antianêmicos do fígado possuem ação redutora bastante acentuada e deve ser atribuida sobretudo à presença de substâncias com o grupo SH. A verificação do poder redutor póde ser feita por meio do nitroprussiato de potássio, do molibdato de amônio, do permanganato de potássio, do diclorofenol-indofenol ou pelo reativo de Bezssonoff (Gaumé & Arthus) (4).

Procurando verificar o poder redutor por meio da solução de molibdato de amônio, não nos foi possivel encontrar resultados satisfatórios, desde que a redução não apresentava relação nem com a concentração nem com a pureza dos extratos. Para obter um dado quantitativo praticamos a dosagem pelo iodato de potássio em meio fortemente ácido, exprimindo os resultados em glutation. Abaixo damos resultados encontrados com extratos comerciais de atividade clínica comprovada.

Comparando os dados da Tabela I observa-se que o poder redutor não está relacionado nem com a concentração nem com a atividade do extrato. Assim, os extratos Lilly e Liverex que apresentam a mesma

[1] Recebido para publicação a 13 de Outubro de 1941.

concentração e atividade próxima, mostraram valores bastante divergentes. A purificação parece no entanto influir no poder redutor pois os extratos mais fortemente corados oferecem valores mais elevados.

TABELA I

Extrato	Poder redutor calculado como glutation em mg. para 100cc.
Lilly concentrado	12,2
Liverex concentrado (Parke, Davis & Co.)	7,3
Hepatex (Evans)	5,7
Pernaemon (Organon)	7,6
Campolon (Bayer)	15,2
Extrato n.º 7 [2]	7,0

Em vista da ação hematopoiética dos extratos anti-anêmicos e do seu poder redutor, foi-nos lícito pesquisar a ação "in vivo" sôbre a glutationemia. Verificamos que todos os extratos ativos experimentados aumentam sensivelmente o glutation total do sangue. A elevação maxima se observa após 3 horas da injeção, sendo que 24 horas depois os valores voltam ao normal. No gráfico 1 figuram alguns resultados obtidos em coelhos e cobaios depois da injeção de 1 cc. de extrato Lilly.

E' interessante notar que tanto a adrenalina como a cortina tambem determinam aumento da glutationemia cujo máximo se encontra depois de 3 horas (ZUNZ & VESSELOVSKY) (3).

A seguir damos as respostas da glutationemia do coelho após 3 horas da injeção de diversos extratos antianêmicos ativos (Tabela II).

TABELA II

N.º	Extrato	Dose	Peso do coelho	Glutation total em mg. para 100cc. de sangue	
				Antes	Após 3 horas
1	Hepatex	1 cc.	1.357	32,6	61,3
2	Liverex	1 cc.	1.240	32,7	55,2
3	Pernaemon	1 cc.	1.996	38,6	50,6
4	Campolon	1 cc.	1.237	27,6	43,7
5	Extrato 7	1 cc.	1.000	36,8	42,9

[2] O extrato n.º 7 corresponde a um extrato preparado e purificado no laboratório, por adsorção em norita, e que se mostrou ativo clínica e experimentalmente.

O aumento observado não póde ser atribuido ao poder redutor do extrato porque é muito superior à quantidade injetada expressa em glutation. Sendo a glutationemia função do número de hemátias, visto êste composto não existir no plasma, procuramos verificar se o aumento da glutationemia corria por conta de algum aumento do número de hemátias e não do enriquecimento das hemátias em glutation. Para isso, determinamos o volume de glóbulos pelo hematócrito de VAN ALLEN antes e depois de 3 horas de injeção de um extrato ativo. As variações encontradas não ultrapassaram 5 % nos dois sentidos e portanto a hiperglutationemia não é aparente.

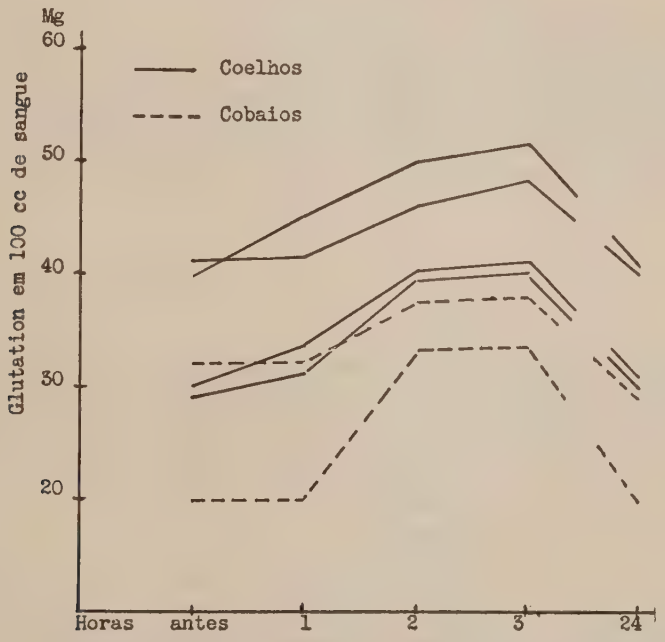


Fig. 1 — Curva horária da glutationemia do coelho e do cobaio depois da injeção de extrato antianêmico do fígado.

TÉCNICAS EMPREGADAS

As tomadas de sangue, quer no cobaio quer no coelho, foram feitas por picada auricular. A dosagem do glutation, atendendo à pequena quantidade de sangue retirada, teve que ser adaptada a pequenos volumes. Empregamos a técnica de WOODWARD & FRY modificada por VILLELA & CAMPOS (5).

O sangue total logo após a sua retirada foi pipetado com pipeta de precisão (0,1 cc.) e desproteinizado com 0,1 cc. da solução molar de ácido sulfosalicílico e 0,8 cc. de água distilada. A dosagem foi praticada em 0,1 cc. do filtrado adicionado de 0,025 cc. da solução de ácido sulfosalicílico a 4 % e 0,025 cc. da solução de iodeto de potássio a 10 % e 1 gota de amido a 1 %. A titulação

foi feita com a solução de iodato de potássio 0,001N usando-se uma microbureta de Rehberg calibrada em milésimos de cc. O cálculo fica sendo:

$$\frac{\text{cc. gastos} \times 100}{3{,}26} \times 1000 = \text{glutation em mg. para 100 cc. de sangue total.}$$

O fator 3,26 foi comprovado com uma solução padrão de glutation feita na ocasião da dosagem.

As dosagens comparativas empregando esta microtécnica e a técnica original ofereceram resultados perfeitamente concordantes, com o limite de erro de $\pm$ 0,1 %.

RESUMO E CONCLUSÕES

1. Os extratos antianêmicos quando injetados no cobaio ou no coelho produzem aumento do teôr de glutation total do sangue.

2. A elevação da glutationemia é máxima após 3 horas da injeção do extrato, voltando ao normal depois de 24 horas.

3. Ha possibilidade de se aplicar a resposta da glutationemia como "test" biológico para a dosagem do princípio antianêmico do fígado. O estudo mais detalhado sôbre este assunto será objeto de próxima publicação.

4. Foi apresentada uma adaptação da técnica original de Woodward & Fry para a determinação do glutation em 0,1 cc. de sangue.

ABSTRACT

ACTION OF ANTIPERNICIOUS LIVER EXTRACTS ON BLOOD GLUTATHIONS

Liver antipernicious extracts clinically actives when injected to guinea pigs or rabbits produce a marked increase of blood glutathione.

Maximal values are observed after 3 hours from the injection which return after 24 hours to the starting level.

An bioassay of liver antianaemic extracts based on the blood glutathione response was suggested and is now in study.

Blood glutathione was determined with Woodward and Fry's iodometric method adapted to small volumes of blood (0.1 ml).

BIBLIOGRAFIA

1. VILLELA, G. G. & MELLO, M. I., 1941, Um novo "test" para a avaliação da atividade biológica do princípio antianêmico do fígado. *Rev. Brasil. Biol.*, 1 (3): 329-335.

2. ZUNZ, E. & VESSELOVSKY, O., 1939, Recherches sur l'influence de diverses hormones sur la teneur du sang en glutathion. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 21: 98-111 e *Enzymologia*, 3 (1), 281-287 [1937].

3. ZUNZ, E. & VESSELOVSKY, O., 1937, Untersuchungen über den Einfluss verschiedener Hormone auf den Glutathiongehalt des Blutes. II Mitteilung: Insulin und Vagotonin. *Biochem. Z.*, 292 (5-6): 326-331.

4. GAUMÉ, A. & ARTHUS, A., 1940, Extension biochimique de quelques réactions d'oxydo-réduction. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 22 (1-2): 86-98.

5. VILLELA, G. G. & CAMPOS, J. G., 1934, Glutathion do sangue humano normal. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 29 (1): 1-17.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 435-442
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

OPILIÕES COLIGIDOS POR ANTENOR LEITÃO DE CARVALHO NO TAPIRAPÉS [1]

CANDIDO DE MELLO-LEITÃO

De sua proveitosa viagem ao Tapirapés trouxe o naturalista ANTENOR LEITÃO DE CARVALHO interessante material aracnológico. Na presente nota damos a descrição das espécies novas de Opiliões, a que juntamos a de alguns outros que nos vieram às mãos nêstes últimos tempos.

PALPATORES

Munequita g. n. *Gagrellinarum*

Cômoro ocular mais largo que alto e mais alto que longo, com duas filas dorsais de quatro dentes ponteagudos. Escudo dorsal inerme. Ancas com filas marginais de dentes trifidos. Fêmures muito longos: I e III quatro vêzes maiores que o corpo e II mais de sete vêzes; fêmures IV sem nódulos pseudo-articulares; fêmures I e III com um nódulo e II com três. Tipo:

Munequita pulchra sp. n.

Corpo: 2 mm. Fêmures: 8,4 - 15 - 8 - 11 mm.

Corpo pouco convexo, de tegumentos muito granulosos. Cômoro ocular mais largo que alto e mais alto que longo, bilobado, com duas filas de dentes pequenos, ponteagudos. Fêmures anteriores com um nódulo pseudo-articular, II com três nódulos, III com um e IV sem nódulos. Palpos delgados, todos os segmentos sem apófises; fêmures iguais em comprimento à patela com a tíbia e menor que o tarso.

Corpo negro, com uma larga orla branca em U invertido, compreendendo todo o cefalotorax adiante do cômoro ocular e o terço anterior do corpo de cada lado: na borda posterior do tergito III uma faixa amarelada; esternitos com uma linha amarelada distal; ancas brancas; segmento estigmático branco, exceto a extremidade anterior. Palpos de femur e patela negros; o resto amarelo creme; queliceras creme.

Localidade tipo: Juquiá, Estado de S. Paulo.

Col.: A. Lane.

---

[1] Recebido para publicação a 15 de Outubro de 1941.

Geaya nigriventris sp. n.

Corpo: 4 mm. Fêmures: 10,2 - 20 - 10 - 14 mm.

Corpo densamente pontuado, reticulado. Cômoro ocular de altura igual ao comprimento e menor que a largura, com uma depressão mediana e duas filas de nove pequenos dentes. Ancas com filas marginais de dentes triangulares. Palpos com a tíbia provida de uma apófise apical, dirigida para diante, maior que a largura dêsse segmento; o fêmur com uma fila ventral de pequenos espinhos. Patas com os fêmures granulosos; I, III e IV sem nódulos e II com três.

Escudo dorsal amarelo sulfúreo claro. Cômoro ocular negro. Toda a face ventral castanho escura. Queliceras de colorido amarelo pálido. Palpos de fêmur, patela e três quartos basilares da tíbia castanho-escuros; porção apical das tíbias e os tarsos amarelo-pálidos.

Localidade tipo: Tapirapés, Estado do Pará.

Col.: A. Leitão de Carvalho.

Esta espécie é muito próxima de *G. elegans* Roewer, da qual se distingue pela armadura do cômoro ocular e pelo colorido dos palpos.

Geaya nigricoxa Roewer, 1910

Desta espécie, conhecida da Guiana Holandesa e do Baixo Amazonas, coligiu Antenor Leitão de Carvalho numerosos exemplares em Tapirapés.

Geaya unicolor Roewer, 1910

Espécie conhecida de Costa Rica, Colômbia e Venezuela. Colhida por A. L. Carvalho em Tapirapés.

LANIATORES

Família *Cosmetidae*

Poecilaemula albosigillata sp. n.

Corpo: 4,6 mm. Fêmures: 4 - 8,6 - 6 - 8,2 mm. Patas: 13,6 - 31,2 - 18,4 - 25,6 mm.

Todo o corpo fina e irregularmente granuloso. Áreas I, II, IV e V e tergitos livres inermes; área III com dois espinhos ponteagudos. Tergitos e esternitos livres com uma fila de granulações. Área estigmática e ancas muito granulosas; ancas IV de borda posterior denteada. Tarsos I de sete segmentos; II de 12; III de sete e IV de dez.

Corpo castanho queimado, com duas grandes manchas leitosas, ocupando o terço externo do escudo dorsal e estendendo-se da primeira à quarta área dorsal. Cefalotorax com duas pequenas manchas irregulares do mesmo tom leitoso, situadas adiante e bem para fora dos olhos. Ha no escudo dorsal, na linha mediana, entre as grandes manchas, uma fila de três pequenas manchas circulares e, de cada lado, duas outras, nas áreas I e II; atrás das manchas ha um denso pontilhado branco, de pontos regularmente circulares. Cada tergito livre apresenta dois pontos circulares brancos.

Localidade tipo: Pomba, Estado de Minas Gerais.

Col.: Geraldo G. Souto.

Poecilaemula smaragdula sp. n.

Corpo: 4 mm. Fêmures: 5,2 - 12,4 - 8 - 12 mm. Patas: 13,4 - 46 - 24 - 36 mm.

Tegumentos lisos, finamente *chagrinés*. Borda anterior do cefalotorax com pequena elevação mediana, finamente granulosa. Cômoro ocular sem cristas superciliares granulosas. Escudo dorsal com as áreas I, II, IV e V inermes; área III com dois altos espinhos rombos, robustos, irregularmente granulosas. Esternitos livres com uma fila de pequenas granulações. Área estigmática e ancas muito granulosas. As ancas I e dos palpos muito pilosas. Opérculo anal dorsal com um pequeno tubérculo arredondado. Tarsos I de sete segmentos, II de 15; III de 9 e IV de onze.

Corpo negro. No escudo dorsal ha uma fila mediana de cinco manchas circulares verdes e de cada lado três outras, sendo as duas posteriores situadas atrás dos espinhos da área III. Opérculo anal dorsal com uma orla verde. Tergitos livres e esternitos com estreita linha verde oliva-escura. Nas ancas IV uma mancha verde dorsal. Todas as manchas verdes são mais salientes. Palpos, quelíceras e patas verdes.

Localidade tipo: Santa Teresa, Estado do Espírito Santo.

Col.: Augusto Ruschi.

Família *Phalangodidae*

Cynortina brasiliensis sp. n.

♀ : 4 mm. Fêmures: 1,1 - 1,8 - 1,5 - 2,2 mm. Patas: 4,6 - 7,8 - 6 - 8,2 mm.

Borda anterior com uma elevação romba mediana. Cômoro ocular separado da borda anterior e provido de dois pequenos espinhos. Todas as áreas do escudo dorsal e tergitos livres sem tubérculos ou espinhos, a área I sem sulco longitudinal mediano. Áreas I a IV com uma fila transversa de granulações pontudas, setíferas e mais algumas granulações espiniformes; áreas laterais com uma fila de pequenas granulações. Área V e tergitos livres com uma fila de granulações espiniformes. Opérculo anal dorsal com duas filas de granulações espiniformes. Esternitos livres com uma fila de pequenas granulações setíferas. Área estigmática e ancas muito granulosas, com as granulações setíferas. Estigmas traqueais visíveis.

Palpos: trocanter com dois espinhos; fêmur com dois robustos espinhos ventrais basilares e com um espinho apical interno; patela com um espinho interno; tíbia com três espinhos internos e dois externos; tarsos com dois espinhos de cada lado. Tarsos I com três segmentos, II com sete; III com cinco e IV com seis. Patas muito granulosas, com granulações ponteagudas.

Dorso castanho-queimado; face ventral amarelo-queimada.

Localidade tipo: Aurá, Estado do Pará.

Col.: Antenor Leitão de Carvalho.

Esta espécie se distingue da espécie tipo (*C. tarsalis* Banks) pela granulação mais densa do escudo dorsal e por ter as ancas IV densamente granulosas, assim como pelo colorido.

Família *Gonyleptidae*

Subfamília *Pachylinae*

Discocyrtus carvalhoi sp. n.

♂ : 7 mm. Fêmures: 3,2 - 7 - 5,6 - 6,2 mm. Patas: 12,4 - 25,4 - 19,2 - 26,6 mm.

Borda anterior do cefalotorax com uma fila de pequenas granulações. Cômoro ocular alto, com dois robustos espinhos erectos. Cefalotorax irregularmen-

te granuloso. Áreas I a III irregularmente granulosas; área II com uma fila de granulações maiores. Áreas I, III e IV divididas por um sulco longitudinal. Área IV com uma fila de granulações maiores e algumas pequenas granulações esparsas. Áreas laterais com três filas de granulações. Área V e tergitos livres com uma fila de granulações maiores e menores, alternando irregularmente. Opérculo anal dorsal granuloso. Opérculo anal ventral e esternitos livres com uma fila de pequenas granulações. Área estigmática e ancas IV irregularmente granulosas. Ancas III e II com três filas de granulações; ancas I com duas filas.

Todos os fêmures direitos; de II a IV com um espinho apical posterior. Tarsos I de seis segmentos; II de 9; III e IV de sete. Palpos: trocanter com dois espinhos; fêmur com um espinho basilar ventral e outro apical interno; patela com um espinho apical interno; tíbia com 4 espinhos internos e 3 externos; tarsos com 3 espinhos internos e 4 externos.

Patas IV do macho: ancas com pequeno espinho apical interno e robusta apófise apical externa ponteaguda, sinuosa, dirigida para trás; trocanter mais largo que longo, com uma apófise apical interna cônica e pequena, três apófises externas, sendo duas basilares arredondadas e uma apical transversal; fêmur sem apófises ou espinhos, apenas com filas de pequenos tubérculos. Quelíceras com o segmento basilar com três dentículos apicais externos e uma granulação basilar dorsal.

Corpo fulvo-escuro, com todas as granulações, os espinhos de cômoro ocular e da área III, os tubérculos da área I e a apófise apical externa do trocanter IV negros; fêmures posteriores com a metade distal negra. Palpos e queliceras de colorido amarelo queimado.

Localidade tipo: Tapirapés, Estado do Pará.

Col.: Antenor Leitão de Carvalho, a quem dedico a espécie.

Nemoribalta g. n.

Cômoro ocular com dois pequenos espinhos. Áreas I a V do escudo dorsal e tergitos livres com dois tubérculos. Fêmur dos palpos com espinhos ventrais mas sem espinho apical interno. Tarsos I de seis segmentos; os outros de mais de seis.

O presente gênero é muito próximo do *Metabalta* Rwr., do qual difere por ter os tarsos III e IV de mais de seis segmentos. Tipo:

Nemoribalta plana sp. n.

♂: 7,6 mm. Fêmures: 2,8 - 5 - 4 - 5,6 mm. Patas: 10 - 17 - 13,6 - 19,2 mm.
♀: 10 mm. Fêmures: 2,6 - 5 - 4 - 5,8 mm. Patas: 9,8 - 18 - 14 - 18,8 mm.

Borda anterior do cefalotorax granulosa, com dois espinhos medianos erectos e dois de cada lado, dirigidos para diante. Cômoro ocular quase liso, armado de dois espinhos quase contiguos. Cefalotorax finamente granuloso. Áreas I a IV do escudo dorsal com dois tubérculos e irregularmente granulosas. Áreas laterais com uma fila de granulações. Área V e tergitos livres com dois tubérculos e uma fila de granulações grandes. Opérculo anal dorsal irregularmente granuloso. Opérculo anal ventral com duas filas de granulações. Esternitos livres com um fila de pequenas granulações. Área estigmática e ancas IV e III quase lisas; ancas II e I muito granulosas.

Palpos: trocanter com um espinho ventral; fêmur com três espinhos seriados ventrais, na metade basilar; patela inerme; tíbia com quatro espinhos externos e três internos; tarsos tambem com 4 espinhos externos e três internos. Tarsos I de 6 segmentos; II de 9; III e IV de sete.

Patas posteriores do macho: anca pouco granulosa, com robusta apófise apical externa cônica; trocanter mais largo que longo, com um dente basilar cônico externo e dois dentes internos; fêmur curvo, de concavidade interna, com uma apófise cônica basilar dorsal, um espinho apical interno e várias filas de dentes rombos.

Colorido castanho-denegrido uniforme.

Localidade tipo: Serra do Erêrê, Estado do Pará.

Col.: Antenor Leitão de Carvalho.

Subfamília *Bourguyinae*

Despirus montanus sp. n.

♀ : 6 mm. Fêmures: 3 - 6,4 - 5,2 - 7,6 mm. Patas: 11,6 - 22,6 - 16,6 - 24,6 mm.
♂ : 6 mm. Fêmures: 4,6 - 10,4 - 10,2 - 21,6 mm. Patas: 16 - 38,5 - 32 - 83 mm.

Borda anterior do cefalotorax inerme, áspera. Cefalotorax de tegumentos ásperos, apenas com duas granulações muito afastadas, atrás do cômoro ocular. Este é baixo, muito largo, armado de dois robustos espinhos afastados. Área I do escudo dorsal com uma fila de granulações; áreas II e III com granulações irregularmente esparsas, a área III com dois espinhos. Áreas IV e V, áreas laterais, tergitos e esternitos livres com uma fila de granulações; opérculo anal irregularmente granuloso. Área estigmática quase lisa. Ancas I a IV muito granulosas.

Palpos: trocanter com dois espinhos ventrais; fêmur com um espinho basilar ventral e outro apical interno; patela inerme; tíbia com 5 espinhos internos e 5 externos; tarso com 4 espinhos internos e 3 externos. Segmento basilar das quelíceras com uma fila transversal de granulações. Ancas IV do macho com um espinho apical externo dorsal.

Todo animal côr de mogno uniforme.

Localidade tipo: Serra do Cipó, Estado de Minas Gerais.

Col.: A. O. Martins, J. Evangelista, Pedro Simplício.

Subfamília *Coelopyginae*

Metampheroides serrinus sp. n.

♂ : 6 - 13 mm. Fêmures: 6,8 - 15 - 11,6 - 16 mm. Patas: 18,8 - 43,6 - 32,6 - 50 mm.

Borda anterior com um fila de granulações e dois pequenos espinhos medianos erectos. Cômoro ocular inerme, granuloso. Cefalotorax irregularmente granuloso. Áreas I a III do escudo dorsal irregularmente granulosas, a área III com dois espinhos rombos, baixos, erectos. Áreas laterais, área IV e tergitos livres com uma fila de granulações. Opérculo anal pouco granuloso. Área estigmática e ancas irregularmente granulosas, a área estigmática soldada às ancas IV.

Palpos: trocanter, fêmur e patela inermes; tíbia com 3 espinhos internos e 4 externos; tarsos com dois espinhos de cada lado. Todos os fêmures direitos. Tarsos I de 7 ou 8 segmentos (no tipo 7 no tarso direito e 8 no esquerdo); II de 15 (sendo a porção distal de quatro segmentos); III de 15 e IV de 19 (ambos com a porção distal de 3 segmentos). Unhas dos tarsos III e IV denteadas.

Patas IV do macho: anca granulosa, com uma apófise apical externa, quase transversal, contorcida em hélice, ponteaguda; trocanter mais larga que longa, granulosa, com uma apófise basilar externa e um espinho apical interno; fêmur direito, granuloso, afilando-se para o ápice com uma fila de ro-

bustos dentes ponteagudos internos, na metade basilar do segmento, e outra ventral, de dentes semelhantes, nos dois terços basilares e diminuindo regularmente para os distais.

Colorido geral amarelo queimado uniforme.

Localidade tipo: Barro Branco, Estado do Rio de Janeiro.

Col.: G. Passarelli.

Subfamília *Mitobatinae*

Cnemoleptes g. n.

Cômoro ocular inerme. Áreas do escudo dorsal e primeiro tergito livre inermes. Tergitos livres II e III com um espinho mediano. Fêmur dos palpos com um espinho apical interno. Todos os tarsos de mais de seis segmentos.

Êste gênero é muito próximo de *Asarcus* Koch, do qual se distingue por ter o cômoro ocular e a área I do escudo dorsal inermes. Tipo:

Cnemoleptes passarellii sp. n.

♂ : 8 mm. Fêmures: 5,6 - 17,8 - 12,2 - 28,4 mm. Patas: 19,4 - 64 - 37,4 - 86,6 mm.

♀ : 7 mm. Fêmures: 4 - 11 - 8 - 14 mm. Patas: 9,2 - 36,4 - 25 - 44,4 mm.

Borda anterior com pequenas granulações. Cefalotorax *chagriné*, sem granulações. Cômoro ocular liso e inerme, de largura igual a quase três vêzes o comprimento. Áreas I a III do escudo dorsal inermes, *chagrinés*, com pequenas granulações muito escassas. Áreas laterais, área IV, tergitos e esternitos livres com uma fila de granulações. Tergito livre II com robusto espinho mediano, dirigido para trás; tergito III com um espinho mediano muito menor. Opérculo anal dorsal com uma fila de granulações. Opérculo anal ventral liso. Área estigmática e ancas posteriores lisas; ancas III com duas filas de granulações marginais; ancas II e I com uma fila mediana de granulações setíferas mais robustas.

Palpos: trocanter com robusto espinho ventral; fêmur com um espinho basilar ventral, uma fila ventral de pequenos grânulos e um espinho apical interno; patela inerme; tíbia com 4 espinhos internos e 3 externos; tarsos com 4 espinhos externos e 3 internos. Tarsos I de 7 segmentos; II de 17; III de 11 e IV de 13. Ancas posteriores com uma apófise apical externa espiniforme, curva para baixo; trocanter com um espinho basilar dorsal, curvo para dentro.

Corpo de colorido amarelo queimado uniforme. Às vêzes a área IV e os tergitos livres denegridos. Área estigmática com um linha negra mediana. Fêmures marmorados de negro; os outros segmentos negros.

Localidade tipo: Barro Branco, Estado do Rio de Janeiro.

Col.: G. Passarelli.

Subfamília *Cranainae*

Oranellius g. n.

Cômoro ocular com dois espinhos. Áreas I do escudo dorsal e tergitos livres I e II com dois pequenos espinhos; área III com dois robustos espinhos; áreas II e IV e tergito livre III inermes. Fêmur dos palpos sem espinho apical interno. Tarsos I de seis segmentos; os outros de mais de seis; os dois segmentos basilares dos tarso I do macho enormemente dilatados.

Êste gênero é muito próximo de *Merida* Rwr. do qual se distingue pelo número de segmentos dos tarsos anteriores. Tipo:

Oranellius brasiliensis sp. n.

♂ : 6 mm. Fêmures: 3 - 6,6 - 6 - 7 mm. Patas: 12 - 24,6 - 18 - 23,4 mm.
♀ : 6,5 mm. Fêmures: 3 - 6,4 - 5 - 7 mm. Patas: 12 - 23,4 - 17,6 - 23 mm.

Borda anterior do cefalotorax lisa e inerme. Cômoro ocular liso, com dois pequenos espinhos. Cefalotorax liso, apenas com duas granulações afastadas, atrás do cômoro ocular. Área I do escudo dorsal com dois espinhos e duas granulações fora dos espinhos. Área II com uma fila de 4 granulações; área III com dois robustos espinhos, dois grânulos fora dos espinhos e dois atrás. Áreas laterais e área IV lisas e inermes. Tergitos livres com uma fila de granulações; os tergitos I e II com dois espinhos. Opérculo anal granuloso. Esternitos livres com uma fila de pequenas granulações. Área estigmática e ancas muito granulosas.

Palpos: trocanter com algumas granulações; fêmur com um pequeno espinho basilar ventral, o resto liso e inerme; patela inerme; tíbia com 5 espinhos externos e 4 internos; tarsos com 4 espinhos internos e 3 externos. Tarsos I de seis segmentos; os dois primeiros segmentos no macho enormemente dilatados, sendo o primeiro quase igual aos outros cinco reunidos; tarsos II de 13 segmentos; III e IV de sete.

Todo o animal de colorido negro uniforme.

Localidade tipo: Aurá, Estado do Pará.

Col.: Antenor Leitão de Carvalho.

Família *Stygnidae*

Auranus g. n.

Cefalotorax com dois pequenos espinhos medianos no terço anterior. Áreas I, II e IV do escudo dorsal e tergitos livres I a III inermes; área III com dois espinhos; opérculo anal dorsal com dois espinhos. Tarsos I e III de seis segmentos; II e IV de mais de seis.

Êste gênero se distingue de todos os outros gêneros da subfamília *Stygninae* pela armadura do cefalotórax e do opérculo anal dorsal. Tipo:

Auranus parvus sp. n.

♀ : 2,5 mm. Fêmures: 1,4 - 2 - 1,6 - 2,2 mm. Patas: 5,2 - 7,6 - 6 - 8 mm.

Cefalotorax densamente granuloso no terço médio e armado de dois pequenos espinhos perto da borda anterior. Áreas I e II do escudo dorsal com uma fila de granulações ponteagudas, lisas em seu terço médio; área III com duas filas de granulações iguais e com dois espinhos curvos para trás. Áreas laterais com uma fila de pequenas granulações. Área IV e tergitos livres com uma fila de granulações espiníferas. Opérculo anal dorsal com dois espinhos rombos e algumas granulações iguais as dos tergitos. Opérculo anal ventral granuloso. Esternitos livres com uma fila de granulações. Área estigmática e ancas granulosas.

Palpos: trocanter com um pequeno espinho ventral; fêmur com uma fila ventral de seis pequenos espinhos; patela inerme; tíbia com 5 espinhos de cada lado e tarso com três. Tarsos I e III de seis segmentos; II de 11 e IV de sete.

Corpo pardo-denegrido; patas e palpos com aneis claros.

Localidade tipo: Aurá, Estado do Pará.

Col.: Antenor Leitão de Carvalho.

Diplostygnus ustus sp. n.

♂ : 5 mm. Fêmures: 1,8 - 3 - 2,4 - 3,4 mm. Patas: 7 - 11 - 8,2 — 11,3 mm.
♀ : 4,5 mm. Fêmures: 1,7 - 3 - 2,3 - 3,2 mm. Patas: 6,2 - 11 - 18 - 11,2 mm.

Borda anterior lisa. Cefalotorax com algumas granulações esparsas, os olhos cercados por um anel granuloso; o grande espinho mediano levemente obliquo para diante e perto da borda anterior. Áreas do escudo dorsal muito granulosas; nas áreas I e II dispostas em duas filas transversais; em III de um e outro lado dos dois altos espinhos. Áreas laterais com duas filas de granulações. Área IV e tergitos livres com uma fila de granulações setíferas; tergitos II e III com dois espinhos, que são mais afastados no tergito III. Opérculo anal granuloso. Esternitos livres com uma fila de granulações. Área estigmática e ancas muito densamente granulosas.

Palpos: trocanter com um espinho ventral; fêmur delgado, direito, com um pequeno espinho basilar ventral; patela direita, inerme; tíbia com 2-1-2 espinhos internos e 1-2-2 externos; tarsos com 4 espinhos internos e 3 externos.

Quelíceras do macho muito dilatadas; o segmento basilar com três tubérculos cônicos.

Ancas posteriores com uma apófise espiniforme apical externa; trocanter com três espinhos apicais, sendo dois dorsais e um ventral; fêmur levemente curvo em S, com uma fila de dentes rombos externos; patela com três espinhos (dois dorsais e um ventral).

Corpo castanho queimado uniforme; quelíceras amarelas; patas aneladas de castanho queimado e amarelo queimado.

Localidade tipo: Barra do Tapirapés, Estado do Pará.

Col.: Antenor Leitão de Carvalho.

Diplostygnus tibialis sp. n.

♂ : 6 mm. Fêmures: 3,4 - 7,4 - 5,4 - 7,4 mm. Patas: 10,4 - 25,6 - 17,6 - 24 mm.
♀ : 7 mm. Fêmures: 3,2 - 6,6 - 5 - 7 mm. Patas: 13,4 - 22 - 16,4 - 22 mm.

Borda anterior do cefalotorax lisa e inerme. Cefalotorax liso, com o espinho mediano erecto, não muito elevado. Olhos muito afastados. Áreas I a III do escudo dorsal com uma fila de poucas granulações, a área III com dois altíssimos espinhos erectos, paralelos. Áreas laterais com uma fila de granulações dorsais. Área IV e tergitos livres com uma fila de granulações maiores; os tergitos II e III com dois espinhos, os do tergito III maiores e mais afastados. Opérculo anal granuloso. Esternitos com uma fila de granulações pequeninas. Área estigmática lisa. Ancas pouco granulosas.

Palpos: trocanter com um espinho ventral; fêmur com um pequeno espinho basilar ventral; patela inerme; tíbia com 5 espinhos externos e três internos; tarsos com 2 espinhos externos e 3 internos.

Quelíceras do macho enormemente dilatadas, de segmento basilar com algumas granulações ponteagudas.

Patas IV do macho: ancas com um espinho apical externo; trocanter de comprimento e largura iguais, com um espinho apical interno; fêmur direito com duas filas distais de fortes espinhos ventrais; patela com fila dorsal e outra ventral mediana de espinhos semelhantes aos do fêmur e com um verticilo apical de espinhos; tíbia pequena, muito dilatada na metade distal, com espinhos menores. Tarsos I e III de seis segmentos; II de 14 e IV de sete.

Corpo amarelo queimado, marmorado de negro; patas com largos aneis denegridos; espinhos do cefalotorax amarelo; espinhos do escudo dorsal amarelos; os dos tergitos livres amarelos.

Localidade tipo: Aurá, Estado do Pará.

Col.: Antenor Leitão de Carvalho.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 443-446
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

VARIACIONES EN LA ACCION FOTODINAMICA DEL AZUL DE METILENO SOBRE EL BACTERIOFAGO [1]

GENESIO PACHECO y OVIDIO SUÁREZ MORALES

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

En un trabajo anterior acerca de la acción fotodinámica de los colorantes azules sobre el bacteriófago, ya tuvimos oportunidad de hacer referencia a las publicaciones de estudios hechos sobre el particular, y de un modo general a la acción de los colorantes sobre el bacteriófago.

Posteriormente nos propusimos trabajar con luz monocromática a fin de determinar con alguna precisión la longitud de onda de la luz que actuaba, tomando como referencia la presunción de PEDRAN & TODD de que era la que correspondia a la onda de absorción del azul de metileno conforme a la ley de absorción de GROTTUS-DRAPPER. En los ensayos preliminares tropezamos con el inconveniente de precisar mucho tiempo de exposición con luz blanca artificial para conseguir la inactivación del bacteriofago Flexner 638 con que trabajábamos, viéndonos obligados momentáneamente a desistir de dichas investigaciones hasta aclarar el punto, objeto del presente estudio.

Como quiera que los autores mencionados anteriormente, consiguen la inactivación del bacteriófago staphylo, con que trabajaban, en 4 minutos con luz artificial de una lámpara "point light" c.p. 100 irradiada de una distancia de 20 cm., admitimos la posibilidad de que habia una gran diferencia en el tiempo requerido para inactivar uno ú otro bacteriófago, en igualdad de condiciones, ya que ellos, además, no consiguieron inactivación con una raza de bacteriófago coli ensayada.

Comenzamos pues a verificar esto, utilizando las siguientes 4 razas de bacteriófagos:

Bacteriófago staphylo	N.º 553, título 10^{-9}
Bacteriófago flexner	N.º 638, título 10^{-8}
Bacteriófago coli	N.º 556, título 10^{-9}
Bacteriófago salmonella	N.º 901, título 10^{-9}

[1] Recebido en el 17 Octubre 1941.
Trabajo del Laboratorio de Bacteriología del Instituto Oswaldo Cruz.

Trabajamos en cámara oscura utilizando la luz de una lámpara de incandescencia Zeiss con bombilla de 6 V. y 5 A., Aut. norm. 2 p. a una distancia de 20 cm. del tubo, tratando con esto de ponermos en condiciones más o menos análogas a las experiencias de PEDRAN & TODD ya mencionadas. La exposición hicimos en tubos de hemólisis conteniendo 0,9 cc. del bacteriófago, adicionados de 0,1 cc. de una solución esteril de azul de metileno Grübler (f. bact.) al 1:5.000, de modo de obtener una dilución final del colorante en el bacteriófago de 1:50.000 que consideramos el óptimo en que se opera la acción fotodinámica con el bacteriófago. En todas las pruebas utilizamos, además, los testigos necesarios como: bacteriófago con el azul de metileno permaneciendo en la oscuridad el máximo de tiempo de la suma de las exposiciones de cada serie; bacteriófago sin azul de metileno expuesto a la luz, igualmente el máximo de tiempo de cada serie; y bacteriófago puro sin ninguno de los tratamientos. A fin de evitar un calentamiento excesivo por la prolongada exposición, colocamos los tubos encima de un cristalizador con hielo, cubierto de algodón; en ningún caso observamos elevación de temperatura y sí mas bien una disminución discreta de ella con relación al medio ambiente.

La comprobación de la actividad hicimos en forma análoga a la efectuada en nuestro anterior trabajo, ya que no disponíamos de la cantidad de material requerido para una comprobación por titulación en placas. Tomábamos tubos con 4 cc. de caldo simple de pH 7,8 a cada uno de los que agregábamos I gota de cultivo de 24 hrs., en el mismo caldo, del germen y V gotas del bacteriófago a ensayar. Después de incubación de 24 hrs. a la estufa a 37° C. en una caja forrada interiormente de negro, procedíamos a la lectura.

El siguiente cuadro resume los resultados obtenidos. Con la letra *A* expresamos que el bacteriófago se mostró activo y con la letra *I* que se mostró inactivo, las casillas con el signo — significan que no hicimos exposiciones con dichos tiempos por considerar innecesario.

TIEMPO DE INACTIVACIÓN DE LOS BACTERIÓFAGOS

BACTERIÓFAGO:	*Tiempo de exposición a la luz (en minutos)*												
	2	4	6	8	10	30	40	45	50	60	70	80	90
Staphylo 553	A	A	A	I	I	—	—	—	—	—	—	—	—
Flexner 638	—	—	—	—	A	A	—	A	±	I	I	—	—
Coli 556	—	—	—	—	A	—	A	—	A	A	I	I	—
Salmonella 901	—	—	—	—	A	—	A	—	A	A	±	I	I

Con el bacteriófago salmonella los tiempos de inactivación no fueron tan precisos, habiendo consignado por eso en el cuadro un promedio de los resultados; en general la inactivación osciló entre 60' y 90' en los diferentes ensayos que hicimos, probablemente hayan influenciado en las diferencias los cambios de temperatura ya que indudablemente este factor debe intervenir en el fenómeno, aunque sea en proporción mínima, y en nuestros ensayos no siempre tuvimos una misma temperatura.

Lo que es evidente, y podemos observarlo en forma bien marcada, es que hay una gran diferencia en el tiempo requerido para inactivar un bacteriófago stáphylo y un flexner, coli ó salmonella; mientras el uno es inactivado en pocos minutos, para los otros se precisa una hora aproximadamente.

Si aceptamos, como es lógico, que todos los bacteriófagos pueden sufrir la acción inactivante del azul de metileno por fotodinamia, ya podemos considerar también que su sensibilidad a este fenómeno varía y probablemente de acuerdo al tipo del germen al que está adaptado. Cabe ahora tratar de establecer la hipótesis sobre cuál es el factor que determina esta variación de sensibilidad. Como se trata de un fenómeno de oxidación, es decir de un fenómeno fotoquímico o mas bien un fenómeno físico-químico, podría pensarse en una diferencia en las dimensiones del bacteriófago, pero observando el cuadro de dimensiones de Barnard modificado por Elford (publicado en el libro de Topley & Wilson) vemos que hay bacteriófagos mayores y menores de un mismo tipo, por lo que, tomando como ciertas estas medidas no se puede relacionar la diferencia de sensibilidad con el tamaño de las partículas. Otro punto de referencia, tal vez más interesante, encontramos en los trabajos de Wells & Sherwood que trabajando con 6 razas de bacteriófagos de las cuales 2 son para gérmenes Gram positivos y 4 para gérmenes Gram negativos, hallan una acción "fagística" (no fotodinámica) selectiva del cristal violeta y verde brillante en altas concentraciones del colorante, encontrando además, que los bacteriófagos de bacterias Gram positivas fueron inhibidos completamente por concentraciones que no disminuyen la actividad de bacteriófagos de bacterias Gram negativas.

Es posible entonces, que esta diferencia en la sensibilidad de los bacteriófagos frente a la acción fotodinámica del azul de metileno, esté relacionada con la naturaleza de la bacteria a la que se adaptó, siendo que, al igual que las bacterias Gram positivas que fijan fuertemente el colorante, su correspondiente bacteriófago al fijarlo en igual forma, permite su inactivación más rápidamente.

CONCLUSIONES

1.º) Existe una marcada diferencia en la sensibilidad de los bacteriófagos, frente a la acción fotodinámica del azul de metileno.

2.º) Mientras unos son inactivados en pocos minutos, otros requieren de una hora aproximadamente, en las mismas condiciones de experimentación.

3.º) La diferencia posiblemente está relacionada con la naturaleza del gérmen a que el bacteriófago ha sido adaptado, precisando más, con su calidad de bacteria Gram positiva o Gram negativa.

RESUMO

Bacteriófagos de várias bactérias comportaram-se diferentemente em relação à ação fotodinâmica do azul de metileno. Alguns são inativados em poucos minutos, enquanto outros resistem até 1 hora, nas mesmas condições de experimentação.

E' possivel que tais diferenças estejam relacionadas com a composição química da bactéria, à qual está adaptado o bacteriófago, pois que as diferenças encontradas correspondem à resistência positiva ou negativa ao Gram.

BIBLIOGRAFIA

PEDRAN, J. R. & TODD, C., 1933, Photodynamic action of methylene blue on bacteriophage, *Proc. Roy. Soc. B.*, 112: 277-287.

SUAREZ MORALES, O., 1941, Acción fotodinámica de los colorantes azules sobre el bacteriófago, *Rev. Brasil. Biol.*, 1 (1): 11-17.

TOPLEY, W. W. C. & WILSON, G. S., 1936, *Principles of Bacteriology and Immunity*, Wm. Wood & Co., Baltimore (Cf. cuadro de pag. 750).

WELLS, A. & SHERWOOD, N., 1933, Selective action of crystal violet and of brilliant green on bacteriophages, *J. infect. Dis.*, 52: 209-213.

WELLS, A. & SHERWOOD, N., 1934, Selective action of dyes and of other disinfectants on bacteriophages *J. infect. Dis.*, 55: 195-198.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 447-448
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

NOTA PRÉVIA SÔBRE UMA NOVA ESPÉCIE DE "PERIPATUS" DO BRASIL CENTRAL [1]

ANTENOR LEITÃO DE CARVALHO
Museu Nacional do Rio de Janeiro, D. F.

(Com uma figura no texto)

Esta nova espécie de *Peripatus* caraíba que a seguir descrevemos, enquadra-se pela forma e disposição das papilas dorsais e pelo número de papilas crurais dos machos na terceira seção dos *Peripatus caraibas* de Bouvier (1905), portanto no sub-gênero *Peripatus* de Clark (1913).

Quanto ao arranjo das papilas nas dobras cutâneas assemelha-se ao de *P. juliformis* e *P. Bouvieri* e quanto à forma das papilas principais a *P. Brölemanni* e *P. Bouvieri*.

Ela se distingue facilmente, à primeira vista, das outras espécies por possuir a região cefálica, branca izabelina (isto é, região compreendida entre a base das antenas e uma linha que partindo do dorso, na altura da face anterior do primeiro par de patas, desce pelos flancos, atingindo a face posterior do dito par) contrastando com o castanho muito escuro das antenas e o castanho mais claro do dorso (fig. 1).

Peripatus (*Peripatus*) *heloisae* sp. n.

Dobras dorsais mais ou menos da mesma largura e em número de doze por segmento. Duas dobras incompletas em cada segmento: uma antes da pata, começando ao nível de implantação da mesma; a outra na altura do meio da pata e um pouco acima de sua inserção. Sete dobras passam entre as patas, do dorso para o ventre, as das extremas contornam as bases dêsses apêndices.

Papilas principais do dorso de dois tipos, sendo um grande, proeminente, cuja base subcônica ocupa a largura da dobra, terminando por um esferoide muito escamoso e pigmentado com uma cerda no centro. Estas papilas estão arrumadas nas dobras em espaços de diferentes tamanhos, formando linhas longitudinais sinuosas de certa regularidade e simetria. O segundo tipo é semelhante ao primeiro porém, com a base mais curta cônica e esferoide menor. Entre duas papilas grandes, isto é, do primeiro tipo ha de 3 a 6 papilas cônicas menores sendo a do meio, sempre do segundo tipo (isto é, papila principal pequena) e as outras que geralmente são do mesmo tamanho e forma, ou um pouco menores, porém, sem o esferoide e cerda do centro e que consideramos

[1] Recebido para publicação a 20 de Outubro de 1941.

acessórias, si bem que haja formas de transição destas para as principais do segundo tipo [2]. Papilas acessórias muito pequenas, ocupam os flancos das dobras e se intercalam entre as principais circundando-as.

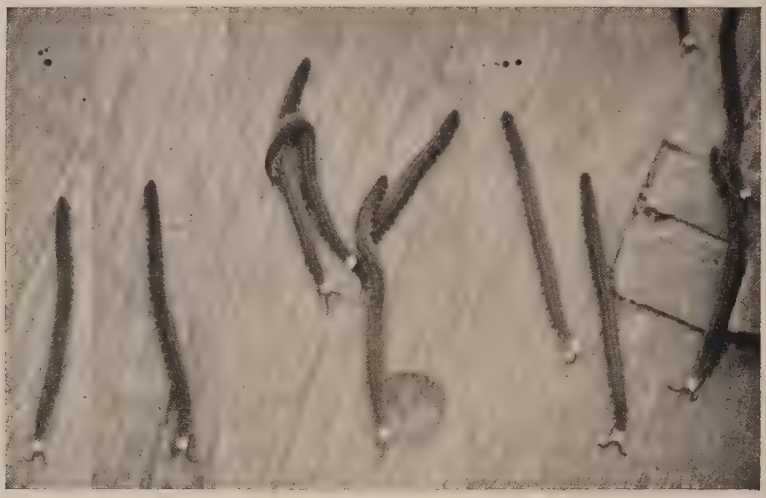


Fig. 1 — *Peripatus (Peripatus) heloisae* n. sp., fotografia de varios exemplares vivos.

Linha clara nítida, orgãos claros pouco visiveis, orgãos frontais desenvolvidos. Um dente acessório em cada lâmina mandibular, 8 a 12 dentículos na serrilha. Patas em número de 28 a 32 pares nos machos, 31 a 34 pares nas fêmeas. Solas dos pés com 4 arcos, mais ou menos da mesma largura, e rudimentos de um 5.º. Tubérculo urinário dos pares de patas IV e V, produz um entalhe no terceiro e uma curvatura no quarto, que geralmente é menor e um pouco mais estreito que o terceiro.

Glândulas salivares, terminando entre o 2.º e o 3.º par pregenital, às vêzes, entre o 1.º e 2.º. Seus reservatórios atingem o 3.º par de patas. Papilas crurais nos três pares de patas pregenitais dos machos, as glândulas do 1.º par desenvolvidas no sinus lateral, as do 2.º e 3.º, permanecem na cavidade coxal. Próstata ovoide situada, ora entre o 2.º e 6.º, ora entre o 5.º e 8.º par pregenital. Glândulas anais sub-claviformes, atingindo com o fundo do saco, que é mais dilatado, o 4.º par de patas pregenital. Possuem uma ampola em suas extremidades e comunicam-se com o exterior por dois póros distintos, situados na parte inferior entre o anus e o último par de patas. Ovário preso ao pericárdio, entre o 5.º e 6.º par preanal por um funículo bifido nos dois terços distais. Receptáculo seminal com 500 μ. Maior comprimento dos machos 36 mm.; das fêmeas, 56 mm.

Habitat — Região à margem esquerda do rio Tapirapé, próxima à sua confluência com o Araraguaia.

Holotipo e alotipo na coleção zoológica do Museu Nacional.

Dedicamos esta espécie ao Chefe da Divisão de Etnografia, D. Heloisa Alberto Torres, atual Diretor do Museu Nacional, pela oportunidade que nos deu de conhecer mais um trecho do nosso sertão.

---

[2] Adotamos o critério de FUHRMANN (1941) quanto a classificação das papilas.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 449-456
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

HISTOPLASMOSE EM CRIANÇA NO ESTADO DE MINAS GERAIS [1]

EUDORO VILLELA e MADUREIRA PARÁ

Serviço de Estudos e Pesquizas sobre a Febre Amarela, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 5 figuras no texto)

A histoplasmose é uma blastomicose visceral cujo agente responsavel é o *Histoplasma capsulatum* e de evolução sempre fatal em todos os casos assinalados na literatura médica.

Até esta data foram descritos 12 casos desta doença, sendo 3 na América Central, 7 nos Estados Unidos da América do Norte, 1 na Argentina e 1 em Java [2].

O presente caso de histoplasmose foi por nós diagnosticado em Julho de 1939 pelo exame histopatológico de um fragmento de fígado retirado do cadaver de uma criança residente em Recreio, Estado de Minas Gerais, Brasil.

Esta verificação põe em evidência, mais uma vez, o valor dos dados de importância científica e administrativo-sanitária, além dos relativos à febre amarela, que se podem obter do exame histopatológico dos fragmentos de fígados colhidos por um serviço permanente de viscerotomia.

MATERIAL E MÉTODOS

O material que serviu para o presente estudo é constituido por um fragmento de fígado (n.º lab. 172.092) retirado 13 horas após a morte e fixado em formol a 10 % em sôro fisiológico.

Dêste material, uma parte foi incluida em parafina e a outra serviu para cortes por congelação. Os cortes provenientes dos blocos em parafina e corados pela Hematoxilina-Eosina nos deram, de início, a impressão de se tratar de

---

[1] Recebido para publicação a 21 de Outubro de 1941.
Os estudos e observações em que se baseia este trabalho foram feitos sob os auspícios do *Serviço de Estudos e Pesquizas sobre a Febre Amarela*, organisação mantida pelo Ministério de Educação e Saúde do Brasil em cooperação com a Divisão Sanitária Internacional da Fundação Rockefeller.

[2] Recentemente De Monbreun encontrou um cão infectado, em natureza, pelo *Histoplasma capsulatum*, tendo conseguido isolar o cogumélo que se mostrou identico a amostra humana. Pensa De Monbreun ser o cão o depositário natural do *Histoplasma capsulatum* e crê que a histoplasmose é bem mais frequente do que se supõe até agora e cita, em apoio, 9 casos novos da doença assinalados ultimamente nos Estados Unidos. Admite, tambem, que deve haver uma forma benigna da molestia (De Monbreun, W. A., 1939. The dog as a natural host for Histoplasma capsulatum. *Amer. J. Trop. Med.*, 19: 565-582).

um caso de leishmaniose visceral. A irregularidade de tamanho dos elementos parasitários, aparentemente maiores do que as leishmanias e o excessivo número dêstes elementos que se mostram, por vêzes, em grandes aglomerados, nos levaram a suspeitar de Histoplasmose.

Esta suspeita se confirmou pelo método de Giemsa que mostrou a ausência de bléfaroplasto nestes elementos leishmanioides [3].

Realizamos vários métodos de coloração e os que nos deram melhores indicações foram o Giemsa, o Gram e o Goodpasture. Os elementos levuliformes do *Histoplasma capsulatum*, nos tecidos, possuem grande afinidade pelo corante nuclear dêstes dois últimos métodos, o que permite distinguir nitidamente os parasitos e detalhes de sua estrutura interna.

Forneceram, ainda, bons resultados os métodos de Hematoxilina-férrica de Heidenhain e o da dupla impregnação de Del Rio-Hortega, modificação de Rumjantzew e Suntzowa. Êste último método já haviamos empregado satisfatoriamente no estudo das lesões viscerais da blastomicose produzida pelo *Paracoccidioides brasiliensis*.

HISTÓRICO E DADOS CLÍNICOS

Levantada a suspeita de histoplasmose pelo exame microscópico das preparações do fígado de H. M. S. coradas pela Hematoxilina-Eosina e pelo Giemsa, um de nós, apesar de já decorridos 12 dias da morte da criança, seguiu até a localidade de Recreio, para realizar uma investigação de campo.

Este inquérito local nos forneceu os seguintes dados clínicos retrospectivos:

H. M. S., com 3 anos de idade, do sexo masculino, mulato-escuro, nasceu e residiu sempre em Recreio, Estado de Minas Gerais.

A sua doença durou cerca de 2 meses. No início teve febre e por este motivo foi levado a um curandeiro que lhe receitou alguns chás. Continuou bem fraco, sem apetite, emagrecendo muito. Só guardou o leito, entretanto, 3 dias antes da morte.

Cerca de 4 semanas após o início da doença apresentou durante vários dias diarréia com raias de sangue. A mãe da criança procurou então o farmacêutico da localidade que, por informação, prescreveu: xarope iôdo-tânico, vacina antidisentérica polivalente (via oral) e um soluto de vitamina A e D.

Uma semana antes de morrer apresentou ictericia e manchas arroxeadas espalhadas pelo corpo.

O Dr. Darcy Miranda, clínico local e representante do Serviço de Viscerotomia em Recreio, informou-nos ter observado quando da colheita do fragmento do fígado, que foi feita com bisturí, aumento de volume do orgão que mostrava consistência friavel e coloração cérea.

H. M. S. sempre viveu em condições de higiene as mais precárias e em completa promiscuidade com um cão adulto, fazendo ambos as suas refeições numa mesma vasilha.

Este animal foi trazido para o laboratório, sacrificado e autopsiado, mas nada revelou de anormal o exame histológico de suas vísceras.

A casa onde residia H. M. S. em companhia de sua mãe, padrasto e uma irmã de 6 meses de idade, era uma habitação coletiva situada numa várzea. No local existiam cães, gatos, porcos, galinhas e numerosos ratos. O Dr. Eu-

---

[3] Preparações do presente caso foram, por nós, enviadas aos Drs. H. da Rocha Lima, A. E. de Arêa Leão e H. E. Meleney que confirmaram o nosso diagnóstico. A eles muito agradecemos, tambem, a remessa de material de comparação.

RICO VILLELA, a quem agradecemos, procedeu o exame clínico de todos os moradores da aludida habitação, nada encontrando de suspeito.

ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO E DESCRIÇÃO DO MICROORGANISMO NO TECIDO HEPÁTICO

O aspecto microscópico apresentado pelo fígado de H. M. S. corresponde exatamente ao descrito pelos autores que têm estudado o assunto.

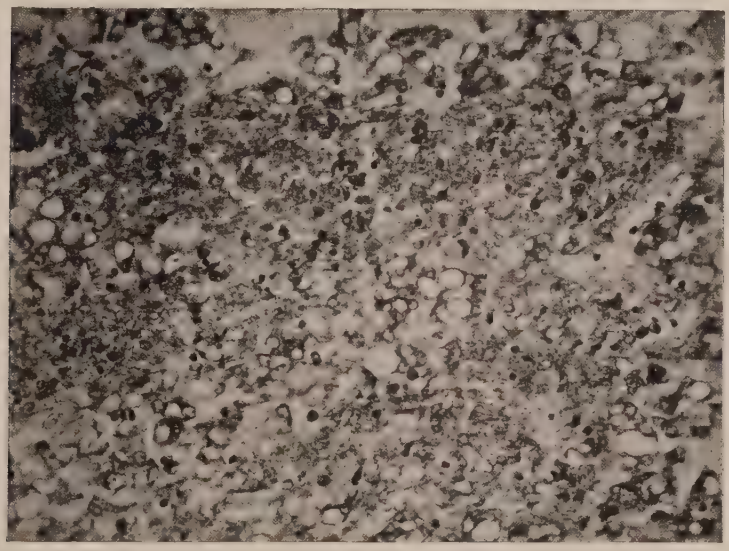


Fig. 1 — Corte de Fígado de H.M.S. Células hepáticas com grandes vacuolos; proliferação de células reticulo-endoteliais, quasi todas parasitadas pelo *Histoplasma*. Coloração: Goodpasture, X 240.

No presente caso ocorre notadamente enorme proliferação das células do sistema retículo-endotelial por todo o parênquima hepático, predominando as de tipo macrófago. Estas células encontram-se, por vêzes, arranjadas em grandes aglomerados e se apresentam sempre intensamente parasitadas (figs. 2, 3 e 5).

A arquitetura trabecular é alterada pela proliferação das células retículo-endoteliais. Grande número de células monocitárias infiltram e aumentam os espaços-porta. Muitas destas células tambem se mostram parasitadas.

As células hepáticas apresentam grandes vacúolos de gordura, coraveis pelo Sudan III (fig. 1).

Nas células retículo-endoteliais, o aspecto morfológico dos elementos levuliformes do microorganismo parasito é idêntico ao descrito por CRUMRINE & KESSEL para a fase intracelular do *Histoplasma capsulatum* Darling, 1906.

Tais elementos se distinguem, sem precisão porém, com objetiva 20 X, aumento de 200 diâmetros, mas, com objetiva 40 X, aumento de 400 diâmetros, êles já podem ser bem reconhecidos.

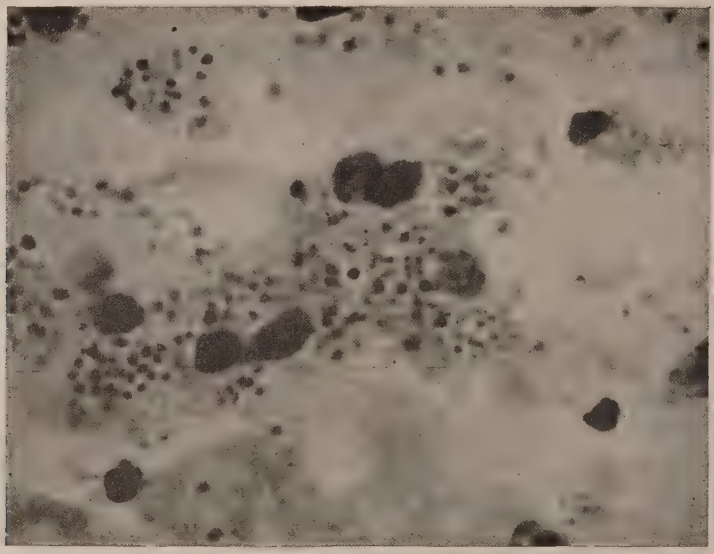


Fig. 2 — Corte de Fígado de H.M.S. Grupo de células retículo-endoteliais parasitadas pelo *Histoplasma;* notar a irregularidade do tamanho destes elementos. Coloração: Giemsa, X 1500.

Para um exame detalhado da estrutura dêsses elementos é indispensavel trabalhar com objetiva de imersão e utilizar preparações coradas pelo Heidenhain, Giemsa, Gram ou Goodpasture.

Nessas condições verifica-se que cada corpúsculo, de forma arredondada ou ovoide, é constituido por uma massa cromática envolvida por uma membrana acromática cuja espessura autoriza ser considerada como uma verdadeira cápsula. No interior do corpúsculo não existe nenhuma formação semelhante ao bléfaroplasto das leishmanias.

A porção interna do corpúsculo se mostra, em geral, com coloração difusa mas, em numerosos elementos, é constituida por pequenos blocos de cromatina cuja disposição é variavel, encontrando-se a maior parte dêles reunida na periferia. Em consequência, o parasito geralmente apresenta no seu interior uma ou mais zonas claras que não tomam absolutamente corante algum e cuja situação é central ou subcentral. A cápsula do corpúsculo se demonstra nitidamente com o método nuclear de Del Rio-Hortega (fig. 4).

Nas preparações não coradas pode-se distinguir a presença da cápsula pela sua maior refringência.

Pelos métodos de Gram e de Goodpasture nota-se que os elementos parasitários se coram intensa e exclusivamente pelo corante nuclear de

ambos os métodos o que não acontece com as leishmanias que possuem afinidade tintorial complexa.

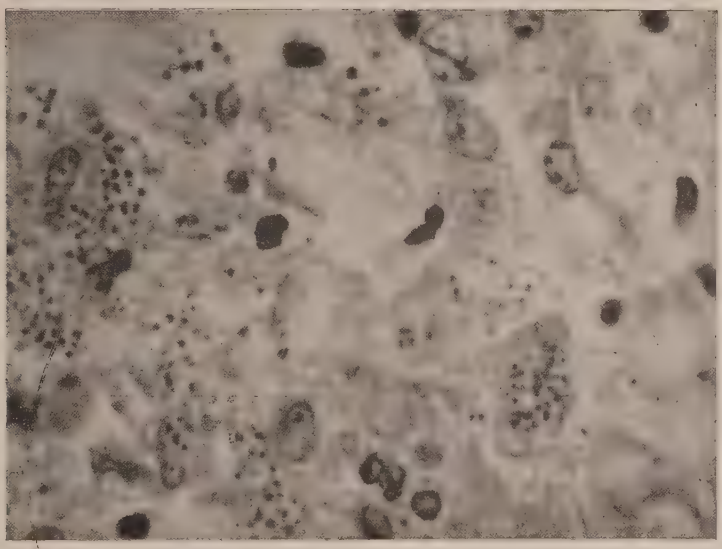


Fig. 3 — Corte de Fígado de H.M.S. Grupo de células retículo-endoteliais parasitadas pelo *Histoplasma*. Coloração: Goodpasture, X 1400.

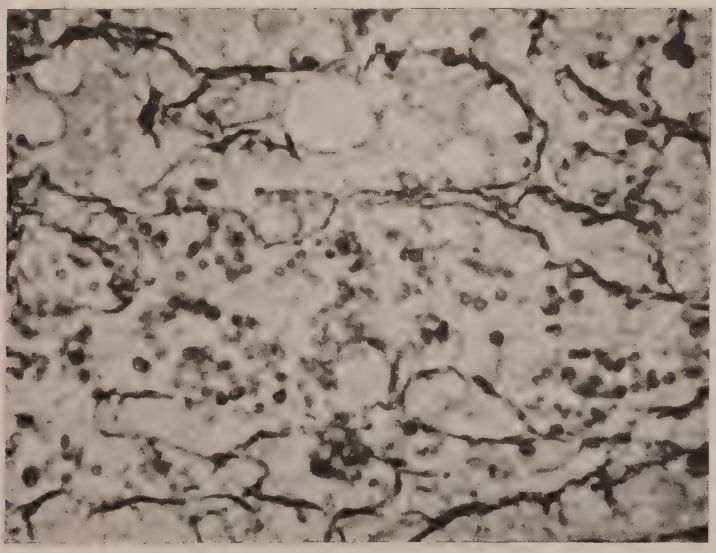


Fig. 4 — Corte de Fígado de H.M.S. Aspecto do parênquima hepático após destruição celular pelo permanganato de potássio. Grande número de blastosporos encapsulados do *Histoplasma*. Método de Dupla-Impregnação de Rio-Hortega, X 850.

Comparando entre si os corpúsculos levuliformes, observa-se a existência de formas maiores e de outras menores. O maior tamanho achado foi de 3 micra e o menor de 1 micron de diâmetro, sendo o valor médio de 1,6 micra.

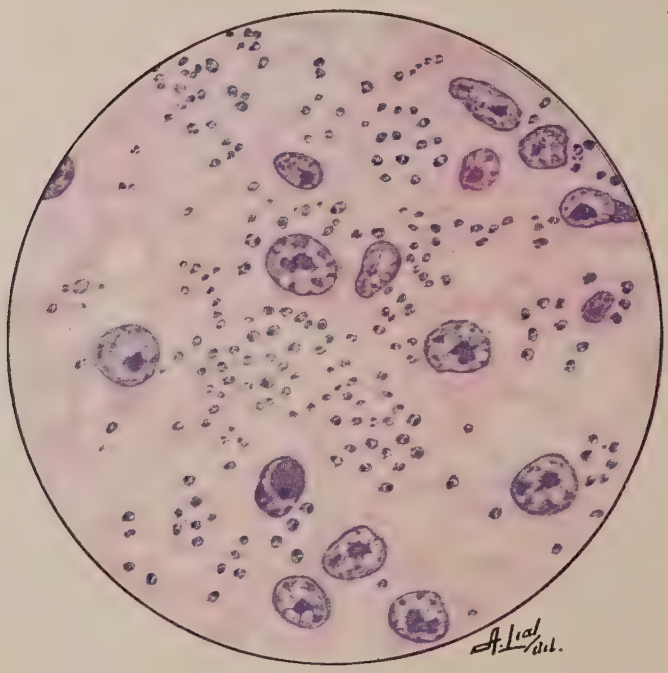


Fig. 5 — Corte de Fígado de H.M.S. Nota-se a presença de numerosos blastosporos de *Histoplasma capsulatum* no interior de células retículo-endoteliais. Desenho em câmara clara de uma preparação corada pelo método de Goodpasture, X 970.

Tambem se notam elementos corados anormalmente em róseo pelo Goodpasture e em alaranjado pelo Sudan III. Tais elementos tomam mal o corante e os interpretamos como formas velhas ou degeneradas do parasito. Estas diferenças em tamanho e afinidade corante traduzem, provavelmente, maior ou menor tempo de vida do corpúsculo levuliforme.

São vistos muito raramente elementos gemulantes.

Observamos que, por vêzes, os agrupamentos de parasitos têm aspecto moruliforme, principalmente dentro das células de tipo monocitário.

COMENTÁRIO

Os primeiros casos de histoplasmose foram descritos por S. T. DARLING em 1906 que os considerou como uma protozoose e deu ao parasito o nome de *Histoplasma capsulatum*.

H. DA ROCHA LIMA, mais tarde, examinando cortes histológicos do material de DARLING, considerou este parasito um cogumelo, dada a sua notavel semelhança com o *Zimonema farcinimosum*, agente da linfangite epizootica dos equideos.

W. A. DE MONBREUN, em 1934, consegue obter o cultivo do *Histoplasma capsulatum* utilizando material do caso descrito por DODD & TOMPKINS, e poude reproduzir a doença em certos animais de laboratório (*Macacus rhesus* é o animal de escolha), confirmando assim a natureza micética do parasito.

CIFERRI & REDAELLI consideram o *Histoplasma capsulatum* como o microorganismo que tem maior afinidade pelo sistema retículo-endotelial e definem a histoplasmose como uma "retículo-histiocitose parasitária atingindo diversos sistemas do organismo".

Acreditamos que esta blastomicose visceral é extremamente rara no Brasil, pois, entre os 186.000 fragmentos de fígado examinados no Laboratório de Histopatologia do Serviço de Febre Amarela, só foi encontrado o presente caso de histoplasmose. Não é de crêr, dada a sua grande afinidade pelo sistema retículo-endotelial, que o *Histoplasma* deixe de se localizar no fígado, uma vez invadido o organismo.

E' justificavel chamar a atenção dos nossos clínicos e laboratoristas para a presença desta moléstia no nosso país e sôbre o cuidado que se deve ter para evitar a sua confusão com a leishmaniose visceral, protozoose endêmica em certas zonas do país como demonstraram os achados histopatológicos de H. A. PENNA (1934), mais tarde completados pelos trabalhos de E. CHAGAS.

A facilidade de se praticar esta confusão já foi, aliás, assinalada pelos autores que têm estudado a histoplasmose e mesmo pelo próprio DARLING.

Agradecemos ao Dr. DARCY MIRANDA, viscerotomista local do Serviço Nacional de Febre Amarela, pelas informações prestadas.

SUMÁRIO

1) Os autores assinalam um caso de histoplasmose, talvez o primeiro encontrado no Brasil. E' o 13.º caso da literatura médica e o 5.º caso visto em criança. O diagnóstico foi feito post-mortem pelo exame histopatológico de um fragmento de fígado proveniente de uma criança de 3 anos de idade.

2) Chamam a atenção para a possivel confusão desta doença com a leishmaniose visceral, sobretudo em regiões onde esta protozoose é endêmica.

3) Para o estudo da morfologia do *Histoplasma capsulatum* e seu dignóstico diferencial com as leishmanias, nos tecidos, forneceram melhores indicações aos autores os métodos de Hematoxilina-férrica de Heidenhain, o Giemsa, o Gram, o Goodpasture e o da dupla impregnação argêntica de Del Rio-Hortega.

4) Fazem notar a raridade da histoplasmose no Brasil, pois, entre os 186.000 fragmentos de fígado examinados microscopicamente no laboratório do

Serviço de Febre Amarela, só foi encontrado um caso desta blastomicose enquanto foram diagnosticados 131 casos de leishmaniose visceral.

SUMMARY

A fatal case of human histoplasmosis is reported.

It is believed that this is the thirteenth case to be reported in the medical literature, the fifth in children and the first in Brazil. The diagnosis was made post-mortem by the examination of sections of the liver of a three year old mulatto boy.

This disease and visceral leishmaniosis may easily be confused, particularly in regions where the latter is endemic.

For the study of the morphology of *Histoplasma capsulatum* and the differential diagnosis between it and *Leishmania* in human tissues, the best results were obtained with the following stains: Heidenhain's iron haematoxylin, Giemsa, Gram, Goodpasture and the double impregnation method of Del Rio-Hortega.

The rarity of histoplasmosis in Brazil is shown by the fact that in 186.000 liver specimens examined microscopically in the laboratory of the Yellow Fever Service only one case of this blastomycosis has been found, while 131 cases of visceral leishmaniosis were discovered in the same series.

BIBLIOGRAFIA

AMOLSCH, A. L. & WAX, J. H., 1939, Histoplasmosis in infancy (report of a case), *Amer. J. Path.*, 15: 477-482.

CRUMRINE, R. M. & KESSEL, J. F., 1931, Histoplasmosis (Darling) without splenomegaly. *Amer. J. Trop. Med.*, 11: 435-449.

DARLING, S. T., 1906, A protozoon producing pseudo-tubercles in the lungs and focal necrosis in the liver, spleen and lymph nodes. *J. Amer. Med. Ass.*, 46: 1283-1285.

DARLING, S. T., 1908, Histoplasmosis: a fatal infectious disease resembling kala azar found among natives of tropical America. *Arch. Int. Med.*, 2: 107-123.

DARLING, S. T., 1909, The morphology of the parasite (*Histoplasma capsulatum*) and the lesions of Histoplasmosis, a fatal disease of tropical America. *J. Exper. Med.*, 11: 515-531.

DE MONBREUN, W. A., 1934, The cultivation and cultural characteristics of Darling's Histoplasma capsulatum. *Amer. J. Trop. Med.*, 14: 93-125.

DODD, K. & TOMPKINS, E. H., 1934, A case of histoplasmosis of Darling in an infant. *Amer. J. Trop. Med.*, 14: 127-137.

HANSMANN, G. H. & SCHENKEN, J. R., 1934, A unique infection in man caused by a new Yeast-like organism, a pathogenic member of the genus Sepedonium.. *Amer. J. Path.*, 10: 731-738.

MULLER, H., 1932, Histoplasmosis in East Java. *Geneesk. Tijdschr. v. Nederl-Indie*, 72 (14): 889-895, [*apud Trop. Dis. Bull.*, 30: 51-52, 1933].

NEGRONI, P., 1939, Estudio Micologico del Primer Caso Sur-Americano de Histoplasmosis. *3th. Intern. Cong. Microbiol., New York*, pp. 207-208.

PHELPS, B. M. & MALLORY, F. B., 1926, Toxic Cirrhosis and Primary Liver Cell Carcinoma complicated by Histoplasmosis of the lung. *United Fruit Co. 15th. Annual Report, Med. Dep.*, pp. 115-122.

REDAELLI, P., 1935, L'épreuve péxique au rouge Congo dans l'histoplasmose expérimentale (Réticulo-histiocytose systématique par "Histoplasma capsulatum" Darling). Note preliminaire. *Soc. Intern. Microbiol., Bol. d. sez. ital.*, 7: 312-316.

REDAELLI, P. & CIFERRI, R., 1934, Affinité entre les agents de l'histoplasmose humaine, du farcin équin et d'une mycose spontanée des muridés, *Soc. Intern. di Microbiol., Bol. d. sez. ital.*, 6: 376-379.

RILEY, W. A. & WATSON, C. J., 1926, Histoplasmosis of Darling: with report of a case originating in Minnesota, *Amer. J. Trop. Med.*, 6: 271-282.

ROCHA LIMA, H., 1912, Beitrag zur Kenntniss der Blastomykosen. Lymphangitis epizootica und Histoplasmosis. *Zbl. Bakt., Abt. 1, Orig.*, 67: 233-249.

RUMJANTZEW, A. W. & SUNTZOWA, W., 1935, Untersuchungen uber Entstehung und Differenzierung fibrillarer Strukturen in mesenchymalen Geweben in vitro. *Arch. Exper. Zellforsch.*, 17: 360-411.

SHAFFER, F. J., SAULD, J. F. & MITCHELL, R. H., 1939, Histoplasmosis of Darling: fourth case to be reported in United States. *J. Amer. Med. Ass.*, 113: 484-488.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 457-462
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

RECHERCHES SUR L'ACTION CONVULSIVANTE DE L'ACÉTYLCHOLINE [1]

H. MOUSSATCHÉ et M. VIANNA DIAS
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

Nous exposerons dans ce travail quelques recherches entreprises sur l'action convulsivante de l'acétylcholine appliquée directement sur l'écorce cérébrale.

Après les travaux de DICKSHIT (1) et CHANG & GADDUM (2) sur l'existence normale de ce corps dans le tissu nerveux central, la question de connaître son rôle dans la transmission de l'influx nerveux dans les synapses centrales devait être envisagée. On a été amené, ainsi, à l'étude de l'action de l'acétylcholine sur le système nerveux central et, dernièrement, plusieurs travaux furent publiés sur ce sujet; DICKSHIT (3) signala une apnée après l'injection de très faibles quantités d'acétylcholine dans les ventricules cérébraux; BONNET & BREMER (4) et SJÖSTRAND (5) ont constaté l'augmentation des potenciels électriques corticaux après l'injection carotidienne ou bien en faisant agir l'acétylcholine sur le cerveaux. En ce qui concerne les effets moteurs, les résultats obtenus par plusieurs auteurs ne sont pas d'accord, car SCHILF & STERNBERG (6) n'ont pû observer des phénomènes moteurs par l'action de solutions concentrées sur la zone motrice du cerveau, tandis que ROSENBAUM (7) a constaté des effets cloniques nets sur les muscles correspondants à la région motrice excité. Un résultat pareil fut obtenu par FELDBERG & MINZ (8) qui ont reussi à produire des contractions musculaires semblables, voire même des convulsions, après des injections répétées de 5-10 mg. d'acétylcholine dans les veines. On doit, cependant, à LONGO (9) la démonstration de l'action convulsivante de l'acétylcholine par application directe de cette substance sur un centre nerveux sensitif-moteur. Cet auteur realisa ses expériences sur des chiens dont la zone motrice corticale avait été mise à decouvert, sans aucune anesthésie, et sur un point moteur préalablement déterminé par excitation électrique, il faisait agir une solution à 10 % d'acé-

---

[1] Reçu le 31 Octobre 1941.
Travail du Laboratoire de Physiologie de l'Institut Oswaldo Cruz.
Nous remercions la maison "Roche" pour l'acétylcholine qu'elle a bien voulu mettre à notre disposition.

tylcholine. Dans ces conditions, des contractions cloniques se produisaient au bout de quelque temps, sur les muscles en rélation avec le point moteur excité. Ces contractions se propagaient à d'autres muscles et produisaient, parfois d'attaques épileptiformes typiques. Il a, néamoins, remarqué que l'attaque en question n'avait pas lieu sur tous les chiens soumis à l'experience; il y avait des animaux prédisposés et de non prédisposés.

Nous avions déjà commencé nos expériences quand nous avons lû le travail de Longo. Nos résultats confirment ceux qui ont été obtenus par cet auteur en ce qui concerne l'action convulsivante de l'acétylcholine et, aussi, sur l'existence d'animaux n'ayant pas d'attaques épileptiques. Nous avons obtenu en plus quelques résultats nouveaux que nous décrirons comme il s'en suit.

TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE

Nous avons employé le chien comme animal d'expérience. On faisait la trépanation et l'exposition de la zone sensitivo-motrice, sans anesthésie (l'expérience ayant démontré que l'anesthésie produit des effets sur la prédisposition aux attaques qui se conservent pendant des heures et qui peuvent fausser les résultats), laissant, en suite, l'animal en repos pendant 2-3 heures. Après ce delai, on faisait la détermination d'un point sensitivo-moteur cortical par excitation électrique: une électrode mise sur la peau et l'autre pour la détermination du centre. Sur ce centre on déposait de petits morceaux de papier à filtre de 2 à 3 mm. imbibés d'une solution de chlorhydrate d'acétylcholine (technique de Baglioni et Amantea). Chaque papier absorbe une quantité de solution variable entre 0,05 cc. et 0,1 cc. La concentration des solutions d'acétylcholine employées variait entre 1 et 10 %. Les papiers imbibés des solutions ont été renouvellés tous les 3-6 minutes pendant 30-40 minutes. Le renouvellement est arreté après que l'attaque se declancha. La zone cutanée correspondante au point sensitivo-moteur soumis à l'action de l'acétylcholine a été excité mécaniquement à peu près pendant toute le durée de l'expérience.

PROTOCOLES DES EXPÉRIENCES

Voici quelques protocoles des expériences que nous avons faites. Dans une 1.ère série d'expériences sur 19 chiens, avec une concentration d'acétylcholine à 10 %, 7 ont eu d'attaques typiques.

Expérience de 30-9-41. Chien n.° 100, 6300 grs., mâle; trépanation du côté droit. Exposition de la zone motrice. Operation terminée à 12.05 heures. 13.30 — Détermination du centre sensitivo-moteur d'extension de la patte gauche. 13.45 — Solution d'acétylcholine à 10 % sur le centre. 13.47 — Renouvellement de l'acétylcholine. Quelques secondes après contractions cloniques fortes des muscles d'extension de la patte. Excitation mécanique de la peau de la patte. Les contractions cloniques augmentent et se généralisent. Attaque épileptiforme forte. 13.49 — Renouvellement de l'acétylcholine. Clonus faible. 13.54 — Acétylcholine; excit. mec. de la peau. Forte attaque épileptiforme pendant 1 minute. 14.10 — Nouvelle attaque spontanée.

De même que dans cette expérience, tous les animaux qui ont eu une attaque ont présenté une période latente (période comprise entre

le commencement de l'application de l'acétylcholine et l'attaque) très courte, variant entre quelques secondes et 3 minutes. Seulement dans un cas la période latente a été de 18 minutes. Dans quelques cas où l'attaque ne se declancha pas, les contractions cloniques ont diminué d'intensité et de fréquence par le renouvellement répeté de l'acétylcholine ou par les excitations mécaniques de la peau. Il y a eu une sorte d'inhibition des contractions cloniques. En enlèvant les bouts de papier à acétylcholine, les contractions cloniques disparaissent rapidement, surtout si l'on compare avec les contractions cloniques produites par l'application de la strychnine.

Expérience de 1-10-1941. Chien 101, 9600 grs. Zone motrice corticale droite mise à decouvert. Opération finie à 11.55 heures. 12.10 — Détermination du centre sensitivo-moteur de l'orbiculaire palpebral gauche. 13.05 — ACh. à 10 % sur le centre; 30" après contractions cloniques fortes. 13.10 — ACh. renouv. Contractions cloniques très fortes. Excit. mec. de la paupière. Pas d'attaque. 13.15 — Renouv. de l'ACh. Contractions cloniques très fortes. Pas d'attaque. Par excit. mec. de la paupière les contractions cloniques diminuent d'intensité. 13.20 — ACh. sur le centre. Contractions cloniques plus faibles et ne se propageant pas aux muscles voisins. L'excitation mecanique ne produit presque d'effet. 13.26 — ACh. renouv. Contractions cloniques faibles. 13.30 — Absence de contractions cloniques. ACh. renouv. Excit. mec. Les contractions cloniques augmentent a peine. 13.33 — Excit. mec. de la paupière repetée; les contractions cloniques augmentent de très peu.

Dans une autre série d'expériences, nous avons essaié d'obtenir des attaques avec des solutions d'acétylcholine d'une concentration plus baisse — 1 et 5 %, — mais toutefois, avec de résultats négatifs. En certain cas, les contractions cloniques sont devenues très fortes et se propagérent à d'autres muscles voisins, s'arrêtant sans produire d'attaque. Il est probable, en tout cas, que les chiens plus *prédisposés,* auront une attaque avec des solutions de concentration semblable à celles que nous avons employés ou même d'une concentration plus faible. Après un renouvellement très fréquent des papiers imbibés dans les solutions d'acétylcholine, la cortex cérébrale devient, quelques fois, congestionée, d'aspect hémorragique, ce qui peut nuire aux résultats. Dans ces cas il ne faut pas prendre en consideration les résultats de l'expérience.

Comme il a été démontré déjà par Amantea (10), la morphine prédispose les animaux à l'action convulsivante de la strychnine appliquée sur les centres corticaux. Quelle serait l'action de la morphine sur les chiens qui n'ont pas eu d'attaque avec l'acétylcholine? Sa connaissance pourrait, probablement, élucider, jusqu'à une certaine limite, la façon d'agir de cet alcaloïde sur la prédisposition de l'animal. Dans ce but, nous avons employé, principalment, d'animaux qui n'avaient pas eu d'attaque après le renouvellement de l'acétylcholine à 10 % pendant plus que 30 minutes. En suite, les chiens étaient injectés avec de la morphine par voie intra-péritoneale et nous réprenions l'expérience 1 à 2 heures plus tard.

Expérience de 24-9-41. Chien mâle, 5100 grs. Zone motrice corticale mise à decouvert. Operation finie à 11.00 heures. 15.15 — Détermination du centre sensitivo-moteur du muscle orbiculaire gauche. 15.20 — Papier trempé dans une sol. d'acétylcholine à 10 %. 15.23 — ACh. renouv. Contractions cloniques faibles. 15.25 — ACh. renouv. Excit. mec. de la paupière. Clonus faible. 15.27, 15.31, 15.35 — ACh. renouv. Contractions cloniques de faible intensité. Excit. mec. de la paupière, inefficace. 15.40, 15.45, 15.48 — ACh. renouv. Pas d'attaque. Contractions cloniques faibles. 15.50 — Arrêt du renouvellement des papiers à l'acétylcholine. Injection péritoneale de 4 cc. d'une solution de Chl. morphine à 2 % (0,017 par klgr. de poids). 17.35 — Acétylcholine sur le centre de l'orbiculaire. 17.37 — Contractions cloniques faibles; excit. mec.; les contractions cloniques deviennent plus fortes et produisent une attaque faible. 17.39 — ACh. renouv. 17.40 — Excit. mec. Attaque. 17.43 — ACh. et en suite attaque forte. 17.46, 17.53, 17.56 — Attaques spontanées. 18.00 — ACh.; attaque. 18.03 — Nouvelle attaque spontanée.

Expérience de 24-10-1941. Chien 112. 5400 grs. Zone motrice corticale mise a nu. Operation finie à 13.50. 14.40 — Solution d'acétylcholine à 10 % sur le centre de l'orbiculaire de la paupière. L'ACh. a été renouvellée jusqu'à 15.15 sans obtenir d'attaque. 15.52 — Injection dans le peritoine de 1,35 cc. de solution de Chld. morphine à 2 % (0,005 grs. par Klgr.). 17.20 — ACh. à 10 % sur le centre. 17.22 — Attaque qui dura 48 secondes. 17.26 — ACh. renouv. 17.33 — ACh. renouv. Contractions cloniques faibles, devenant plus fortes par l'excitation mecanique de la peau de la paupière et aboutissant à une attaque qui dura 1' 50. Par le renouvellement de l'acétylcholine il s'est produit encore 2 attaques d'une intensité trés fortes.

Expérience de 23-10-1941. Chien 111. 6500 grs. Zone motrice mise à decouvert. Operation finie à 12.10 heures. 13.30 — Acétylcholine (solution à 10 %) sur le centre de l'orbiculaire de la paupière. Quelques secondes après, contractions cloniques du muscle orbiculaire. Excitation mecanique de la paupière. Pas d'attaque. 13.36, 13.42 — ACh. renouv. Contractions cloniques bien perceptibles augmentant spontanément. 13.47 — Nouveau papier avec de l'acétylcholine. Les contractions cloniques ont augmenté après quelques excitations mecaniques et l'attaque se declancha. 13.49 — Supression des papiers avec de l'acétylcoline. 15.20 — Emploi d'acétylcholine recommencé avec solut. à 5 %. ACh. renouvellée tous les 5-6 minutes jusqu'à 15.56. Clonus faible. Pas d'attaque. Injection intraperitoneale 5 cc. solution de Chld. morphine à 2 % (à peu près 0,015 grs. par Klg.). 17.50 — Reprise de l'expérience; acétylcholine à 5 % sur le centre de l'orbiculaire; 1' 15" après attaque typique.

De ces experiences nous pouvons conclure que la morphine prédispose les chiens à l'action convulsivante de l'acétylcholine, et produit, en certains cas, un état qui semble le mal épileptique. Les attaques se renouvellent spontanément sans qu'il soit nécessaire des excitations mécaniques de la peau. Après l'injection de morphine, l'acétylcholine à 1 et 5 % suffit pour declancher l'attaque. La dose minime de morphine qui nous a parut capable de predisposer les animaux, se trouve dans les environs de 0,005 grs. par Kgs. de poid. La dose de 0,01 prédispose nettement.

DISCUSSION

Les résultats dissemblables, en rapport avec les effets moteurs de l'acétylcholine, fournis par les expériences peuvent être expliqués par

l'action des anesthésiques employés. D'accord avec les connaissances acquises sur les convulsions produites par la strychnine appliquée directement sur un centre sensitivo-moteur, les anesthésiques peuvent empêcher le declanchement de l'attaque et même de n'importe quelle contraction clonique, suivant la dose employée. Mais, en evitant de telles actions inhibitrices, on peut observer aisement les phénomènes moteurs produites par l'action de l'acétylcholine sur la cortex cérébrale.

Dans le cas de l'action convulsivante, les convulsions commencent, toujours, par des contractions cloniques des muscles en rapport avec le point sensitivo-moteur excité et se propagent en suite aux muscles voisins, après les excitations mecaniques de la peau qui recouvre les muscles en contraction, ou bien spontanément. En declanchant une attaque épileptiforme typique, le moyen par lequel agit l'acétylcholine reste encore un problème à resoudre. Il se peut que l'augmentation des potentiels électriques du cerveau demontré par BONNET & BREMER, ainsi que le rôle que l'acétylcholine semble jouer dans la transmission de l'influx nerveux dans les synapses centrales, soient des voles pour l'elucidation.

Nous croyons, des expériences ci-dessus enregistrées, que ce qu'on appele *prédisposition* est liée, au moins en partie, à la concentration de la substance employée. Quand il s'agit de l'acétylcholine, qui existe normalement dans le cerveau, il nous semble que la question presente un interes tout particulier.

L'action de la morphine, en permettant d'obtenir des attaques épileptiformes avec des concentrations plutôt faibles d'acétylcholine, sur d'animaux sur lequels des concentrations de 10 % n'avaient pas produit d'attaques, peut être rapprochée de l'action cholinergique de la morphine déjà signalée par SLAUGHTER & GROSS (11) et par KAHNE & LEVY (12). Le fait que la morphine rend plus efficace les effets sur le système nerveux central produites par l'acétylcholine, peut être, jusqu'à une certaine limite, expliqué par les expériences de BERNHEIM & BERNHEIM (13). En effet, ces auteurs ont prové que la morphine possède un pouvoir inhibiteur sur la cholinesterase, ferment qui decompose l'acétylcholine et que se trouve normalement dans le cerveau des chiens. [NACHMANSON (14)].

CONCLUSIONS

1. Les solutions d'acétylcholine appliquées directement sur la zone motrice corticale des chiens produisent d'attaques épileptiformes.
2. Sur des chiens sur lequels l'application d'acétylcholine n'avait pas produit des convulsions, la morphine injectée par voie peritoneale a permis de les obtenir.

CONCLUSÕES

1. A aplicação de solução de acetilcolina diretamente sôbre a zona motora cortical de cães, produziu ataques epileptiformes.

2. Em cães em que a aplicação exclusiva de acetilcolina mostrou-se ineficaz, a injeção de morfina por via intra-peritonial seguida de acetilcolina na cortex permitiu obter fortes ataques e, em alguns casos, um quadro semelhante ao do mal epiléptico.

BIBLIOGRAPHIE

1. DIKSHIT, B. B., 1933, The presence in the brain of a substance resembling acetylcholine. *J. Physiol.*, 79: 1P.
2. CHANG, H. C. & GADDUM, J. H., 1933, Choline esters in tissue extracts. *J. Physiol.*, 79: 255-285.
3. DIKSHIT, B. B., 1934, Action of acetylcholine on the brain and its occurence therein. *J. Physiol.*, 80: 409.
4. BONNET, V. & BREMER, F., 1937, Action du potassium, du calcium et de l'acétylcholine sur les activités électriques, spontanées et provoquées, de l'écorce cérébrale. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 126: 1271-1275
5. SJÖSTRAND, T., 1937, Potential changes in the cerebral cortex of the rabbit arising from cellular activity and the transmission of the impulses in the white matter. *J. Physiol.*, 90: 41P-43P.
6. SCHILF, E. & STERNBERG, W. F., 1932, Über die Wirkung von Acetylcholin auf Ganglienzellen. *Arch. exp. Path. Pharmakol.*, 166: 371-374.
7. ROSENBAUM, H., 1939, Chemical mediation in the central nervous system. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 63: 417.
8. FELDBERG, W. & MINZ, B., Cité par SCHILF, E. & STERNBERG, W. F. (6).
9. LONGO, V., 1940, Azione dell'acetilcolina aplicata direttamente sulla corteccia cerebrale del cane. *Arch. Fisiol.*, 40: 348-365.
10. AMANTEA, G., 1923-24, L'epilessia sperimentali da eccitamenti, afferinti nei cani profundamenti morfinizzati. *Bull. R. Acad. Med., Roma.*
11. SLAUGHTER, D. & GROSS, E. G., 1940, Some new aspects of morphine action. Effect on intestine and blood pressure; toxicity studies. *J. Pharmacol.*, 68: 96-103.
12. KAHNE, E. & LÉVY, J., 1939, Influence de la morphine sur la contraction du muscle de sangsue par les derivés de la choline. *C. R. Soc. Biol., Paris,* 130: 309-312.
13. BERNHEIM, F. & BERNHEIM, M., 1936, Action of drugs on choline esterase of the brain. *J. Pharmacol.*, 57: 427-436.
14. NACHMANSON, D., 1939. Choline esterase dans le système nerveux central. *Bull. Soc. Chim. Biol., Paris,* 21: 761.

Rev. Brasil. Biol., 1 (4): 463-468
Dezembro, 1941 — Rio de Janeiro, D. F.

NOTICIAS E COMENTARIOS

A BIBLIOTECA DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Falar da biblioteca de Manguinhos é evocar esta Instituição. A evolução de ambas se confunde, tão intimamente estão ligadas.

No período que mediou entre 1899 e 1907, datas, respectivamente, da criação do "Instituto Soroterápico Federal" e do "Instituto de Patologia Experimental de Manguinhos" que, posteriormente, passou a denominar-se Instituto Oswaldo Cruz, já era apreciavel a atividade do saudoso Sabio, juntamente com a pleiade de pesquisadores que o cercavam, no sentido de uma documentação básica que servisse à Escola recentemente formada.

Já em 1909, funcionando ainda no tôsco prédio da primitiva sede do Instituto, armazenados em prateleiras improvizadas e espalhados em duas pequenas salas, contava a biblioteca de Manguinhos 2.945 volumes e recebia 156 revistas especializadas.

Em fins de 1909 começa a biblioteca a ser técnicamente cuidada. Oswaldo Cruz acertara, como sempre, escolhendo para dirigí-la um espírito culto e trabalhador — o Sr. Assuerus H. Overmeer, cujas atividades, sempre voltadas para Manguinhos, fizeram dêle um dos grandes colaboradores do progresso da medicina experimental no Brasil.

Iniciando o então jovem bibliotecário o desempenho das funções que lhe havia dado o Mestre, tratou imediatamente de dotar a sua biblioteca de catálogos e outros recursos técnicos de acesso às coleções, que até hoje mantem em dia, graças à sua grande experiência e notavel facilidade no lidar com os idiomas estrangeiros.

Assim, fundada por Oswaldo Cruz e orientada técnicamente por A. H. Overmeer, com a indispensavel cooperação dos cientistas do Instituto Oswaldo Cruz, entre os quais se destaca o Prof. Arthur Neiva, que a ela emprestou grande soma de sua sólida cultura, a biblioteca de Manguinhos, para maior glória do seu fundador e para orgulho do patrimônio científico brasileiro, tornou-se o maior centro da bibliografia médica sul-americana e, no terreno especializado da medicina experimental, paralela às maiores organizações congêneres do mundo! Seu patrimônio atingiu, em 1940, o avultado número de 77.983 volumes, entre livros e revistas. Só a sua hemeroteca é constituida por 2.623 revistas, relacionando-se a todos os ramos das ciências biológicas.

Estimar o valor de tão grande patrimônio é quase impossivel. Pelas faturas existentes desde 1909, e considerando o padrão aquisitivo atual, tão elevado, este patrimônio ultrapassa 10.000:000$000.

Esquema sucinto de sua organização — A biblioteca de Manguinhos acha-se organizada segundo a "Classificação Decimal de Bruxellas", nome por que é conhecida a classificação adotada pelo *"Institut International de Bibliographie"*, com sede na capital da Bélgica. Esta classificação foi baseada no trabalho original de Melvil Dewey *"Decimal Classification"*.

Os catálogos são em número de 4, para os livros:

a) registro de entradas; *b*) assuntos; *c*) autores; *d*) paises.

Com exceção do catálogo de autores, que é feito em fichas e já alcança 40.000 exemplares, os demais catálogos em uso são feitos pelo sistema de folhas soltas. Só o catálogo de assuntos atinge a respeitavel soma de 8.000 páginas, datilografadas.

Hemeroteca — Na biblioteca de Manguinhos as revistas estão separadas dos livros, merecendo um tratamento técnico independente destes.

Respondem pela hemeroteca os catálogos:

a) registro; *b*) assuntos; *c*) paises; *d*) topográficos.

Como fonte de acesso aos artigos das coleções, respondem ainda as revistas de "referências", tratadas em outro capítulo.

Serviço de Referência — Criada para atender as altas finalidades da Instituição, a biblioteca de Manguinhos sempre ofereceu aos técnicos do Instituto um serviço de referência o mais liberal possivel e, neste sentido, sempre se empenhou, facilitando-lhes o livre acesso às estantes, fazendo o empréstimo interlaboratórios, acompanhando a bibliografia corrente, fazendo pesquisas, etc.

Em se tratando de leitores estranhos ao Estabelecimento, este serviço, por exigências da função primordial da biblioteca, foi obrigado, infelizmente, a sofrer uma restrição — o empréstimo de obras para fora do estabelecimento. Justifica esta medida a natureza das pesquisas em andamento nos diversos laboratórios do Instituto, que requerem, não raro, a presença das obras na sede da Instituição.

Quanto às outras facilidades não há restrições entre as espécies de leitores. Embora o serviço de referência, como todos os outros da biblioteca de Manguinhos, lute com a falta de pessoal para o seu eficaz desenvolvimento, este serviço vem sendo executado com apreciavel proveito para a classe médica brasileira, achando-se ainda em estudos vários projetos que o ampliam com magnitude no interesse dos leitores do país.

Recursos bibliográficos — No campo especifico da bibliografia médica, a biblioteca de Manguinhos é completa. Suas fontes bibliográficas não deixam uma pesquisa sem resposta.

Para isto, lança mão, não só dos recursos de seus catálogos, enciclopédias e dicionários, gerais e especializados, como ainda e principalmente, das revistas chamadas de "referências", que a biblioteca as possue em número de 72 e que representam quase a totalidade das publicações editadas no gênero. Estas publicações, geralmente mensais, reunem a bibliografia mundial corrente, segundo as especialidades a que se dedicam e procedem, na sua totalidade, dos mais autorizados centros científicos do mundo, como *"The American Medical Association"*, *"The American Chemical Society"* e *"Biological Societies"*, dos Estados Unidos; *"British Museum of Natural History"*, de Londres; *"Bureau der medizinischen Referatenblaetter"*, da Alemanha; *"Concilium Bibliographicum"*, de Zurich, etc.

Estas publicações se esmeram de um corretismo bibliográfico notavel e oferecem, anualmente, um índice geral de todos os artigos analisados. Além do fator "precisão", elas representam uma economia consideravel e, pode-se afirmar, concretizam o que seria praticamente irrealizavel — a ficha analítica dos trabalhos publicados nas revistas científicas.

Não é dificil demonstrar o exposto e os números responderão: si a biblioteca de Manguinhos tomasse a si o encargo de analisar somente 2.000 de suas 2.623 revistas, o número de artigos analisados ultrapassaria a espantosa cifra de 300.000 fichas mensais!... Só no *"Chemical Abstracts"*, publicação da *"The*

American Chemical Society" são analisadas cerca de 3.000 publicações referentes à química.

Das 72 coleções de revistas de "referências" que a biblioteca possue, em sua maioria coleções completas, destacam-se as seguintes:

Ber. ges. Physiol.; Ber. wiss. Biol.; Biochem. Zbl.; Helminth. Abstracts; Index Medicus; Jber. Ergebn. Immunit.; Jber. Tuberkul.; Jber. Urol.; Mschr. Kinderheilk; Physik. Ber.; Physiol. Abstracts; Rev. Appl. Ent.; Rev. Appl. Mycol.; Trop. Dis. Bull.; Vet. Bull.; Z. ges. Neurol. Psychiat.; Zbl. allgm. Pathol.; Zbl. Bakt.; Zbl. Chir.; Zbl. ges. Hyg.; Zbl. ges. Kinderheilk.; Zbl. ges. Ophthalmol.; Zbl. ges. Radiol.; Zbl. Gynaekol.; Zbl. Haut Geschlechtsckr.; Zbl. Physiol.; Zbl. Zool. allg. exp. Biol.; Zool. Rec.; Zool. Ber.; Zool. Zbl.

Riqueza de suas coleções — A) *Hemeroteca:*

> "Perhaps the most essential items in the modern working library are complete files of periodicals. Librarians and members of library committees generally agree that it is more important to expend library funds on current journals and monographs than on books which rapidly go out of date and which chiefly review that which has already appeared in periodical literature".

Com estas palavras o Conselho da *American Medical Association* diz da importância que assumem os periódicos numa biblioteca especializada.

Desde cedo Oswaldo Cruz compreendeu que para uma instituição científica tal como esta que hoje traz o seu glorioso nome, a parte mais importante da biblioteca, de muito maior necessidade do que a formada pelos livros, é a consagrada às revistas e outros periódicos técnicos o que permite acompanhar, dia a dia, o desenvolvimento científico universal. R. Kraus, que trabalhou dirigindo vários institutos científicos na Argentina, Brasil e Chile ao escrever suas impressões sobre esta parte do continente, no seu livro *10 Jahre Südamerika*, publicado em 1927, chama atenção para o valor e a riqueza da biblioteca de Manguinhos por êle considerada, sob este aspecto, a melhor que conheceu na América do Sul.

A medicina em todos os seus ramos, as ciências naturais, a física e a química, mesmo nas suas divisões as mais especializadas são acompanhadas através das suas revistas e os investigadores de Manguinhos e de todo o Brasil procuram a biblioteca da gloriosa Instituição a-fim-de se servirem do que existe de melhor no gênero e que ali se acha acumulado, formando um patrimônio intelectual dos maiores no país e à todos acessivel.

A biblioteca possue coleções completas das mais importantes revistas científicas do mundo, algumas possuindo uma existência mais do que secular e outras alcançando prazo muito longo de publicação, como, por exemplo, os *Annales de Chemie et de Physique, Annalen der Pnysik, The Lancet, Archiv f. Naturg., Annals and Magazin of Natural History, C. R. Academie des Sciences,* etc., etc.

O mesmo critério é seguido quanto às publicações nacionais, possuindo a biblioteca coleções desde o primeiro número das revistas brasileiras mais antigas, como a *Gazeta Medica da Baía, Archivos do Museu Nacional, Revista do Instituto Histórico e Geográfico do Brasil,* etc.

Por intermédio de assinaturas ou permuta pelo orgão oficial de divulgação do Instituto Oswaldo Cruz, as suas "Memórias", recebe a biblioteca revistas que atinge a soma de 2.623, em vários idiomas, com a seguinte procedência:

África do Sul, 12; África Oriental Inglesa, 10; Alemanha, 343; Argentina, 116; Austrália, 26; Austria, 26; Bélgica, 46; Brasil, 464; Canadá, 12; China, 10; Colômbia, 38; Cuba, 38; Dinamarca, 5; Egito, 15; Espanha, 15; Estados Unidos, 336; Filipinas, 13; Finlândia, 13; França, 217; Grécia, 2; Holanda, 39; Ilhas Hawaii, 5;

India Inglesa, 32; Indochina, 3; Inglaterra, 121; Itália, 146; Japão, 41; México, 51; Noruega, 5; Paraguai, 12; Perú, 17; Polônia, 8; Pôrto Rico, 8; Portugal, 39; Rumania, 11; Rússia, 94; Suécia, 12; Suissa, 26.

B) *Livros:* Possue a biblioteca 21.621 obras, representadas por 28.678 volumes, incluindo grandes tratados e obras raras, entre as quais se destacam: *Abderhalden, Handbuch der Biologischen Arbeitsmethoden; Bethe, Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie; Piso, De Medicina brasiliense.*

As obras de Linnaeus; a viagem de Challenger; as publicações do Museu de Oceanografia de Monaco, a Flora de Martius, etc., e as mais reputadas enciclopédias.

O que representa todo este patrimônio bibliográfico especializado para o Instituto Oswaldo Cruz é algo incalculavel. A biblioteca de Manguinhos é o grande laboratório da Instituição, que acompanha, *pari-passu,* o desenrolar de todos os seus trabalhos e, pode-se afirmar, sem o seu funcionamento não seria possivel à Manguinhos elevar tão alto o nome da Ciência brasileira.

Continuando a orientação que lhe foi impressa por Oswaldo Cruz, de fazer da biblioteca de Manguinhos um repositório o mais completo possivel de livros e periódicos referentes a todos os ramos e aspectos do imenso campo das ciências biológicas e assuntos correlatos, e com o apôio do atual diretor do Instituto, Prof. Dr. Antonio Cardoso Fontes, a Biblioteca poderá crescer e conseguir melhores e mais modernas acomodações, e transformar e ampliar sua organização onde se fizer necessário para poder melhor servir.

Mario Araujo Filho.

INSTITUTO BIOLÓGICO EZEQUIEL DIAS

O Instituto Biológico Ezequiel Dias, de Belo Horizonte, por decreto-lei n.º 796, de 20 de Setembro de 1941, passou a denominar-se Instituto Bioquímico do Estado de Minas Gerais, subordinado à Secretaria de Agricultura, Indústria, Comércio e Trabalho. Seu objetivo principal é a fabricação de vacinas, sôros, produtos químicos e farmacêuticos e a feitura de exames microbiológicos, parasitológicos, químicos e bromatológicos.

Não sabemos quais os motivos que levaram os poderes administrativos estaduais a proceder esta reforma, mas acreditamos que êles devam ser extraordinariamente imperiosos para extinguir a pesquisa científica num estabelecimento que já contava com bom renome pelas investigações ali realizadas. Justamente, quando a mudança para novas e melhores instalações parecia um justo premio e incentivo pelo que já tinha sido e ia ser realizado, é decretada uma lei que imprime ao Instituto uma orientação puramente rotineira.

O Instituto Ezequiel Dias foi fundado pelo discípulo de Oswaldo Cruz que lhe deu o nome que teve a felicidade de conservar até a data do decreto-lei acima referido. Até ha bem pouco tempo, foi filial do Instituto Oswaldo Cruz e sua orientação sempre obedeceu à da Escola de Manguinhos fundada por Oswaldo Cruz, a de pesquisa pura e desinteressada, ao lado dos trabalhos de rotina e de ensino normais à generalidade dos institutos biológicos. Com o decorrer do tempo, o Instituto Ezequiel Dias veiu apresentando contribuições científicas em maior número e indiscutivel interesse. Com o aumento de seu corpo técnico e a criação de novas seções especializadas, o Instituto Ezequiel Dias formava, com os Institutos Oswaldo Cruz e Biológico e Butantan, de S. Paulo, as quatro maiores instituições de pesquisas experimentais biológicas e médicas do país.

E' superfluo encarecer a importância da pesquisa científica pura e desinteressada. Dizer, tambem, que grande massa de problemas de ordem puramen-

te prática foram e são constantemente resolvidos pelas conclusões de trabalhos de ordem exclusivamente científica, seria repisar fatos por demais conhecidos. E, entretanto, o número de instituições científicas no Brasil ainda é pequeno. Talvez que o número de organizações de serviço rotineiro não seja ainda sufficiente para atender às necessidades gerais, que tambem podem ser bem compreendidas. Mas, ha um fator que não deve deixar de ser levado em consideração: uma instituição científica não poderá ser formada de um momento para outro, do mesmo modo que não é possivel improvisar um investigador, ao passo que a criação de um laboratório para fabricação de produtos e execução de análises clínicas, em que o trabalho é todo de rotina, exige muito menos tempo, a dificuldade residindo primordialmente nas instalações e material. A formação de um técnico para um serviço destes é relativamente facil e rápida, e o que normalmente acontece em condições de emergência, como um estado de guerra por exemplo, é a transformação imediata do pesquisador em um simples trabalhador com finalidade prática imediata.

A extinção da pesquisa científica no Instituto Ezequiel Dias representa, assim, uma grave perda que o patrimônio intelectual e científico do Brasil acaba de sofrer. Acreditamos, porém, que esta nova orientação tenha a mais curta duração possivel e que o Instituto Biológico Ezequiel Dias volte ao nivel anterior e possa novamente ter suas antigas e nobres atribuições a que de justiça tem direito.

O Dr. Octavio de Magalhães, seu antigo diretor, pediu demissão do cargo a 23 de Setembro próximo passado. E' diretor do atual Instituto, o Dr. Antonio Valadares Baía.

CURSO INTENSIVO SÔBRE MOLÉSTIA DE CHAGAS

Na Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais, em Belo Horizonte, realizou-se, do dia 25 ao dia 31 de Agosto próximo passado, um curso sôbre moléstia de Chagas, com o concurso de técnicos especializados no assunto e que pertenciam a várias instituições científicas; as reuniões foram realizadas à noite, num anfiteatro da Faculdade de Medicina, e a numerosa assistência era constituida de médicos, sanitaristas, professores, técnicos do Instituto Ezequiel Dias e do Serviço de Grandes Endemias e estudantes. Foi obedecido o seguinte programa:

Dia 25: Dr. Eurico Villela, do Instituto Oswaldo Cruz — "Histórico"; Dr. Octavio de Magalhães, do Instituto Ezequiel Dias — "Processos gerais".

Dia 26: Dr. Emmanuel Dias, do Instituto Oswaldo Cruz — "Agente etiológico"; Dr. Herman Lent, do Instituto Oswaldo Cruz — "Transmissores"; Dr. Valdemar Versiani, do Instituto Ezequiel Dias — "Diagnóstico de laboratório".

Dia 27: Dr. Cecilio Romaña, do Serviço de Grandes Endemias — "Formas agudas"; Dr. Aristoteles Brasil — "Formas cardíacas".

Dia 28: Dr. Octavio de Magalhães, do Instituto Ezequiel Dias — "Formas nervosas"; Dr. Oscar Versiani, da Faculdade de Medicina de Belo Horizonte — "Diagnóstico diferencial"; Dr. Magarinos Torres, do Instituto Oswaldo Cruz — "Anatomia patológica geral"; Dr. Borges Fortes, da Faculdade Nacional de Medicina — "Anatomia patológica do sistema nervoso".

Dia 29: Dr. Baeta Viana, da Faculdade de Medicina de Belo Horizonte — "Bioquímica do bócio"; Dr. Lobo Leite, do Instituto Oswaldo Cruz — "Bócio endêmico e moléstia de Chagas"; Dr. Pena de Azevedo, do Instituto Oswaldo Cruz — "Anatomia patológica do bócio".

Dia 30: Dr. Francisco Cardoso, do Instituto de Higiene de S. Paulo — "Moléstia de Chagas em São Paulo"; Dr. Amilcar Vianna Martins, do Instituto Ezequiel Dias — "Moléstia de Chagas em Minas Gerais; Dr. Carlos Chagas Junior, da Faculdade Nacional de Medicina — "Cultura de tripanosomas em tecidos" e "Aspectos epidemiológicos da moléstia de Chagas".

Dia 31: Dr. Samuel Libanio, do Departamento Nacional de Saude — "Profilaxia"; Dr. Carlos Chagas Jr., da Faculdade Nacional de Medicina — "Síntese do curso e apresentação do 18.º caso de Bambuí", Dr. Mello Teixeira, diretor da Faculdade de Medicina de Belo Horizonte — "Encerramento".

O Prof. **A. Cardoso Fontes,** diretor do Instituto Oswaldo Cruz, foi designado membro da Academia Pontifícia de Ciências, com sede na cidade do Vaticano.

O Dr. **John W. Bean,** assistente do Departamento de Fisiologia da Universidade de Michigan, em Ann Arbor, Mich., U. S. A., esteve de passagem por S. Paulo e Rio de Janeiro, na primeira semana de Setembro p. p.

O Dr. **Raymond L. Zwemer,** do Departamento de Anatomia da Escola de Médicos e Cirurgiões da Universidade de Columbia, New York, que esteve na Argentina na qualidade de "fellow" da John Simon Guggenheim Memorial Foundation, visitou S. Paulo e Rio de Janeiro na primeira semana de Setembro p.p.

O Prof. **Miguel Ozorio de Almeida** embarcou, em 8 de Outubro passado, para os Estados Unidos da América.

A **Sociedade de Biologia de São Paulo** acaba de filiar-se à Sociedade de Biologia do Brasil, constituida até então pelas organizações de Minas Gerais e do Rio de Janeiro.

Salientando a importância desta nova filiação, a *Revista Brasileira de Biologia* tem o prazer de divulgar os nomes dos atuais diretores da Sociedade de Biologia de S. Paulo: Prof. Samuel Barnsley Pessôa, presidente; Dr. Paulo Galvão, vice-presidente; Prof. Max de Barros Erhardt, secretário geral; Dr. Mauro Pereira Barretto, secretário; e Prof. Paulo Sawaya, tesoureiro.

A **Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro** realizou, em 9 de Outubro próximo passado, uma reunião no Serviço de Cancerologia do Prof. Alvaro Ozorio de Almeida, situado no edifício da Fundação Gaffrée e Guinle. Nesta ocasião, o Prof. Alvaro Ozorio de Almeida discorreu sôbre suas pesquisas no domínio do cancer, expondo as diversas etapas de suas investigações e as idéias dominantes que as orientaram.

O **IV Congresso Sul-Americano de Química** realizar-se-á, em Santiago do Chile, de 12 a 18 de Janeiro de 1942, e compreenderá 7 secções diferentes: 1) Química geral; 2) Química orgânica; 3) Química inorgânica; 4) Combustiveis; 5) Química biológica; 6) Química analítica; 7) Ensino da Química e temas livres não classificados.

Cada secção terá como objetivo discutir um tema previamente escolhido, bem como relatar os diversos trabalhos apresentados. O tema proposto pelo Comité Chileno foi o de matérias primas nacionais, que será exposto por um delegado de cada país. Os congressistas poderão apresentar trabalhos sôbre qualquer das secções componentes do Congresso, pedindo-se que enviem, com antecedência, o título e um resumo para ser incluido na lista geral a ser publicada pela Comissão de Redação.

ÍNDICE DO VOLUME 1

Absorção dos pigmentos nas células, Coeficiente de, **325**
Acantocéfalos do Estado do Pará, **223**
Acantocéfalos provenientes de Mato Grosso, **57**
Ação fotodinâmica do azul de metileno sôbre o bacteriófago, **443**
Ação fotodinâmica dos corantes azues sôbre o bacteriófago, **11**
Ação inhibidora do suco de *Solanum lycopersicum* sôbre germinação e crescimento, **345**
Acetilcolina, Ação convulsivante da, **457**
Ácidos da série chaulmúgrica, Constantes físicas dos, **75**
Ácido lático no sangue, Determinação, **63**
Adelocephalidae Burmeister, 1878, Um novo, **117**
Adelocephalidae, Lepidoptera, **103, 129, 263**
Adelowalkeria torresi n. sp., **117**
Amônia do sangue de cães com nefrite urânica e após nefrectomia bi-lateral, **253**
Anhidrido carbônico, Influência sôbre a duração dos reflexos, **293**
Anofelinos, Flagelado parasito de, **311**
Anomalia em larva de *Culex (C.) nigripalpus,* **343**
Aparelho de Van Slyke, Modificação do, **365**
Aparelho genital feminino dos *Sarcophagidae* e sua importância na classificação, **215**
Araujo F.º, M., A Biblioteca do Instituto Oswaldo Cruz, **463**
Ariranha, Um novo parasito da, **267**
Ascaroidea, Nematoda, **267**
Astenobiose do *Phlebotomus whitmani* Antunes & Coutinho, 1939, **305**
Ataque epileptiforme produzido pelo resfriamento brusco da medula espinhal, **165, 179, 393**
Ataques epileptiformes anômalos do *Leptodactylus ocellatus* do Rio de Janeiro, **203**
Auer, Corpos de, **161**
Auranus n. g., **441**
Auranus parvus n. sp., **441**
Azul de metileno, Ação fotodinâmica do, **443**

Bacteriofagia, Nota sôbre, a, **421**
Bacteriófago, Ação fotodinâmica do azul de metileno sôbre o, **443**
Bacteriófago, Ação fotodinâmica dos corantes azues sôbre o, **11**
Barretto, M. P., Sôbre a astenobiose do *Phlebotomus whitmani* Antunes e Coutinho, 1939 (*Diptera, Psychodidae*), **305**
Barretto, M. P., ver Coutinho, J. O., **423**
Biblioteca do Instituto Oswaldo Cruz, **463**
Bionômicos sôbre o *Phlebotomus fischeri* Pinto, 1926, Dados, **423**
Boi, Malófagos do, **195**
Bovicola bovis (Linnaeus), **196**
Bovicola equi (Linnaeus), **197**
Brasil Central, Novo *Peripatus* do, **447**
Brasil, Minas Gerais, Tifo exantemático do, **279**

Cálcio dialisavel, do sangue do crustáceo *Uca maracoani,* **387**
Cálcio, do sangue do crustáceo *Uca maracoani,* **69**
Canais deferentes de gatos, Enxertos de, **241**
Cão, Alterações da pele no Kala-Azar sul-americano, **81**
Cardoso, H. T., Constantes físicas dos ácidos da série chaulmúgrica e seus derivados etílicos. Parachor, refração molecular específica e constante de Eötvös, **75**
Carvalho, A. L., Nota prévia sôbre uma nova espécie de *Peripatus* do Brasil Central, **447**
Catudiscus inopinatus n. sp., **121**
Cauda do lagarto, Reflexos da, **19**
Cavalo, Malófagos do, **195**
Células animais, Ação do suco de fruto do *Solanum lycopersicum* sôbre, **355**
Células, Coeficiente de absorção dos pigmentos nas, **325**
Chagas, Evandro (necrológio), **114**
Chaulmúgrica, Constantes físicas dos ácidos da série, **75**
Cimicidae, Hemiptera, **41**
Classificação dos *Sarcophagidae,* Importância do aparelho genital feminino na, **215**
Cloeoascaris longispiculum n. sp., **268**
Clostridium welchii, Influência do oxigênio sob pressão sôbre o, **145**
Cnemoleptes n. g., **440**
Cnemoleptes passarellii n. sp., **440**
Cobra, Corante dos venenos de, **379**
Coccidophilus citricola Brèthes, 1905 (*Col., Coccinellidae*), **409**
Coccinellidae, Coleoptera, **409**
Coeficiente de absorção dos pigmentos nas células, **325**
Cogumelos, Conservação de, **155**
Coleoptera, Coccinellidae, **409**
Coleoptera, Prioninae, **369**
Colesterol, do sangue do crustáceo *Uca maracoani,* **387**
Comentários, Notícias e, **111, 239, 361, 463**
Condylostylus Bigot, Sôbre uma nova espécie brasileira do gênero, **27**
Condylostylus lutzi n. sp., **27**
Conservação de cogumelos pelo dessecamento, **155**
Conservação de culturas bacterianas, **415**
Constante de Eötvös, dos ácidos da série chaulmúgrica e seus derivados etílicos, **75**
Constantes físicas dos ácidos da série chaulmúgrica e seus derivados etílicos, **75**
Convulsões medulares da rã, Ação do difenilhidantoinato de sódio, **301**
Convulsões pela acetilcolina, **457**
Convulsões pela excitação química direta da medula da rã, **301**
Convulsões pelo resfriamento brusco da medula da rã, **165, 179, 301, 393**
Corante dos venenos de cobra e sua fluorescência, **379**
Corantes azues, Ação fotodinâmica dos, **11**
Corpos de Auer, Reticulo-endoteliose aleucêmica e, **161**
Costa, G. A., Nota sôbre a conservação de cogumelos pelo dessecamento, **155**
Costa, G. A., Nota sôbre a bacteriofagia, **421**
Costa, G. A., ver Pacheco, G., **87, 145, 321**
Costa Cruz, José (necrológio), **115**
Costa Lima, A., Considerações sôbre alguns reduviideos da subfamília *Stenopodinae,* **337**
Costa Lima, A., Sôbre a "joaninha" *Coccidophilus citricola* Brèthes, 1905 (*Coleoptera, Coccinellidae*), **409**
Coutinho, J. O. & Barretto, M. P., Dados bionômicos sôbre o *Phlebotomus fischeri* Pinto, 1926 (*Diptera, Psychodidae*), **423**
Coutinho, J. O., ver Galvão, A. L. A., **311**
Craspedacusta sowerbyi Lankaster, 1880, em Minas Gerais, **227**

Creptotrema dispar n. sp., **249**
Crescimento de plantas, Ação do suco de *Solanum lycopersicum* sôbre o, **345**
Crioepilepsia, **393**
Crustáceo *Uca maracoani*, Bioquímica do sangue do, **69, 387**
Culex (C.) nigripalpus Theobald, 1901, Anomalia em larva de, **343**
Culicidae, Diptera, **343**
Culturas bacterianas, Conservação de, **415**
Cynortina brasiliensis n. sp., **437**

Dasypus novemcinctus L., Helminto parasito de, **235**
Despirus montanus n. sp., **439**
Dessecamento, Conservação de cogumelos pelo, **155**
Determinação do coeficiente de absorção dos pigmentos, **325**
Determinação do ferro sérico, Novo método, **271**
Determinação fotométrica dos tocoferois (Vitamina E), **285**
Dias dos Santos, N., Uma nova espécie de *Libellulidae* do gênero *Zenithoptera* Selys, 1882, *(Insecta, Odonata)*, **207**
Dicrocoeliidae, Sôbre um novo tipo de, **125**
Dicrocoeliidae, Trematoda, **201**
Difenilhidantoinato de sódio e epilepsia experimental, **301**
Diplostygnus tibialis n. sp., **442**
Diplostygnus ustus n. sp., **442**
Diptera, Culicidae, **343**
Diptera, Dolichopidae, Uma nova espécie brasileira do gênero *Condylostylus* Bigot, **27**
Diptera, Psychodidae, **305, 423**
Diptera, Sarcophagidae, **215**
Discocyrtus carvalhoi n. sp., **437**
Dolichopidae, Diptera, Sôbre uma nova espécie do gênero *Condylostylus* Bigot, **27**

Eacles Hubner, 1819, Contribuição ao conhecimento do gênero, **129**
Eacles Hubner, 1819, *(Lepidoptera, Adelocephalidae)*, Sôbre uma nova espécie do gênero, **103**
Eacles fairchildi n. sp., **263**
Eacles guinlei n. sp., **103**
Eacles Lauroi J. Oiticica Filho, 1938, **137**
Eacles majestalis Draudt, 1930, **139**
Eacles manuelita n. sp., **129**
Enxertos de canais deferentes de gatos em diversas condições hormonais, **241**
Eötvös, Constante de, dos ácidos da série chaulmúgrica e seus derivados etílicos, **75**
Epileptiforme, Ataque, **165, 179, 203, 393**
Eurytrema ellipticum n. sp., **201**
Eurytrema minensis n. sp., **235**
Evandrocotyle n. g., **127**
Evandrocotyle paraense n. sp., **125**
Extratos anti-anêmicos do fígado e glutation do sangue, **431**

Fauna helmintológica de Minas Gerais, *Eurytrema minensis* n. sp., parasito de *Dasypus novemcinctus* L., **235**
Ferro sérico, Novo método para a determinação do, **271**
Fígado, Extratos anti-anêmicos do, **431**
Fígado, Princípio anti-anêmico do, **329**
Filarídeos parasitos de lacertídeos, **383**
Flagelado parasita de anofelinos, **311**
Fluorescência, Corante dos venenos de cobra e, **379**
Fósforo, do sangue do crustáceo *Uca maracoani*, **69**
Freitas, J. F. T., Sôbre alguns trematódeos parasitos de rãs, **31**
Freitas, J. F. T., Novo trematódeo paranfistomídeo parasito de rã — *Catadiscus inopinatus* n. sp., **121**
Freitas, J. F. T., Novo trematódeo parasito de peixe do rio Miranda, **249**
Freitas, J. F. T. & Lent, H., Sôbre um novo parasito de ariranha: — *Cloeoscaris longispiculum* n. sp., *(Nematoda, Ascaroidea)*, **267**
Freitas, J. F. T. & Lopes, H. S., Sôbre uma nova espécie brasileira do gênero *Condylostylus* Bigot *(Diptera, Dolichopidae)*, **27**
Freitas, J. F. T., ver Lent, H., **383**

Galinha, Sôbre um novo hematozoário da, **231**
Galvão, A. L. A. & Coutinho, J. O., Nota sôbre um flagelado parasita de anofelinos do sub-gênero *Nyssorhynchus, Herpetomonas pessoai* n. sp. *(Mastigophora, Trypanosomidae)*, **311**
Gangrenas gazosas experimentais, Tratamento pelo oxigênio, **1**
Gargaphia comosa n. sp., **374**
Gatos, Enxertos de canais deferentes de, **241**
Geaya nigriventris n. sp., **436**
Genital, Aparelho feminino, dos *Sarcophagidae*, **215**
Germinação de sementes, Ação do suco de *Solanum lycopersicum* sôbre a, **345**
Gigantorhynchus lutzi n. sp., **224**
Glutation do sangue, Ação dos extratos anti-anêmicos do fígado sôbre o, **431**
Glypthelmins palmipedis (Lutz, 1928), **33**
Glypthelmins proximus n. sp., **39**
Glypthelmins simulans n. sp., **38**
Glypthelmins subtropica Harwood, 1932, **36**
Gomes, B. F., ver Versiani, V., **231**
Goulart, M. D., ver Ozorio de Almeida, A. *et al.*, **345, 355**

Helicobia Coquillet, 1895, **216**
Helicobia aurescens (Towns., 1927), **217**
Helicobia morionella (Aldrich, 1930), **217**
Helicobia pilifera Lopes, 1939, **217**
Hematozoário da galinha, Sôbre um novo, **231**
Hemiptera, Cimicidae, **41**
Herpetomonas pessoai n. sp., **311**
Heterodoxus (Mallophaga), **47**
Histoplasmose em criança no Estado de Minas Gerais, **449**

Ielpo, M., ver Ozorio de Almeida, A., *et al.*, **345, 355**
Imunidade, Influência da sulfanilamida sôbre a, **321**
Índice de côr, do sangue do crustáceo *Uca maracoani*, **387**
Inhibição sôbre a germinação de sementes e crescimento de plantas, **345**
Instituto Biológico Ezequiel Dias, **466**
Instituto Oswaldo Cruz, Biblioteca do, **463**

Jansen, G., Sôbre um novo tipo de *Dicrocoeliidae*: — *Evandrocotyle paraense* n. g., n. sp., **125**

"Joaninha" *Coccidophilus citricola* Brèthes, 1905, **409**

Kala Azar sul-americano, Alterações da pele do cão no, **81**
Kodormus n. sp., **337**
KOPROWSKI, H. & UNINSKI, H., Taxa de amônia do sangue de cães com nefrite urânica e após nefrectomia bi-lateral, **253**

Lacertídeos neotrópicos, Filarídeos parasitos de, **383**
Lagarto, Reflexos da cauda do, **19**
Larva de *Culex (C.) nigripalpus*, Anomalia em, **343**
Latrocimex n. g., **41**
Latrocimex spectans n. sp., **43**
LENT, H., *Latrocimex spectans* n. g., n. sp., parasito de morcegos no Brasil *(Hemiptera, Cimicidae)*, **41**
LENT, H. & FREITAS, J. F. T., Sôbre os filarídeos parasitos de lacertídeos neotrópicos, **383**
LENT, H., ver FREITAS, J. F. T., **267**
Lepidoptera, Adelocephalidae, **103, 129, 263**
Leptodactylus ocellatus do Rio de Janeiro, Ataques epileptiformes no, **179, 203, 393**
Libellulidae, do gênero *Zenithoptera* Selys, 1882, **207**
Lipoptilocnema crispula (Lopes, 1938), **219**
Lloyd, H. C., um benemérito, **361**
LOPES, H. S., Sôbre o aparelho genital feminino dos *Sarcophagidae* e sua importância na classificação (Diptera), **215**
LOPES, H. S., ver FREITAS, J. F. T., **27**
Lutz, Adolpho (Necrológio), **111**
Lyperosomum rudectum Braun, 1901, Um equívoco na descrição do, **83**

MACHADO F.º, D. A., Sôbre alguns acantocéfalos provenientes do Estado de Mato Grosso, **57**
MACHADO F.º, D. A., Sôbre alguns acantocéfalos do Estado do Pará, **223**
MAGALHÃES, O. & ROCHA, A., Tifo exantemático do Brasil, em Minas Gerais, **279**
MAGARINOS TORRES, C., Sôbre as alterações da pele do cão no Kala Azar sul americano, **81**
Mallophaga, Insecta, Um estranho parasito do cão, **47**
Malófagos do boi e do cavalo, **195**
MARTINS, A. V., Sôbre a ocurrência da medusa de água doce *Craspedacusta sowerbyi* Lankaster, 1880, em Minas Gerais, **227**
MARTINS, T. VALLE, J. R. & PORTO, A., Estudo "in vitro" de enxertos de canais deferentes de gatos em diversas condições hormonais, **241**
Mastigophora, Trypanosomidae, **311**
Mato Grosso, Alguns acantocéfalos provenientes de, **57**
MAY, E. & OITICICA F.º, J., *Eacles fairchildi* nova espécie *(Lepidoptera, Adelocephalidae)*, **263**
MAY, E., ver TRAVASSOS, L., **117**
Medula, Ação da temperatura sôbre a manutenção e resistência dos reflexos da, **95**
Medula, Convulsões na rã pela excitação química direta da, **301**
Medula, Convulsões na rã pelo resfriamento da, **165, 179, 301, 393**
Medula espinhal, Ataque epileptiforme produzido pelo resfriamento brusco da, **165, 179, 393**
Medusa de água doce *Craspedacusta sowerbyi* Lankaster, 1880, em Minas Gerais, **227**
MELLO, M. I., Determinação do ácido lático no sangue, **63**
MELLO, M. I., ver VILLELA, G. G., **329, 431**
MELLO-LEITÃO, C., Opiliões coligidos por Antenor Leitão de Carvalho, no Tapirapés, **435**
Mentólise bacteriana, **87**
Metampheroides serrinus n. sp., **439**
Minas Gerais, Fauna helmintológica de, **235**
Minas Gerais, Histoplasmose no Estado de, **449**
Minas Gerais, Ocurrência da medusa *Craspedacusta sowerbyi* Lankaster, 1880, em, **227**
Minas Gerais, Tifo exantemático em, **279**
Modificação do aparelho de Van Slyke, **365**
MONTE, O., Quatro novos Tingitídeos da América do Sul, **373**
Morcegos, *Latrocimex spectans* n. gen., n. sp., parasito de, **41**
MOUSSATCHÉ, H., Difenilhidantoinato de sódio e epilepsia experimental. I. Ação sôbre as convulsões produzidas pelo resfriamento brusco e pela excitação química direta da medula espinhal da rã, **301**
MOUSSATCHÉ, H., Sur une modification de l'appareil de Van Slyke permettant la lecture immediate des volumes gazeux à la pression atmospherique, **365**
MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., Recherches sur l'action convulsivante de l'acetylcholine, **457**
MOUSSATCHÉ, H., ver OZORIO DE ALMEIDA, M., *et al.*, **19, 95, 165, 179, 203, 293, 393**
MOUSSATCHÉ, I., ver PACHECO, G. **417**
Munequita n. g., **435**
Munequita pulchra n. sp., **435**

Nefrectomia bi-lateral, Taxa de amônia do sangue de cães após, **253**
Nefrite urânica, Taxa de amônia do sangue de cães com, **253**
Nematoda, Ascaroidea, **267**
Nemoribalta n. g., **438**
Nemoribalta plana n. sp, **438**
Nitrogênio total e não protídico, do sangue do crustáceo *Uca maracoani*, **387**
Noticias e Comentarios, **111, 239, 361, 463**
Nyssorhynchus sub-gênero, **311**

Ocrioëssa Barberi n. sp., **339**
Odonata, Insecta, **207**
OITICICA F.º, J., Nova espécie do gênero *Eacles* Hubner, 1819 *(Lepidoptera, Adelocephalidae)*, **103**
OITICICA F.º, J., Contribuição ao conhecimento do gênero *Eacles* Hubner, 1819 *(Lep. Adelocephalidae)*, **129**
OITICICA F.º, J., ver MAY, E., **263**
OLIVEIRA, L. P. H., ver VILLELA, G. G., **69, 387**
OLIVEIRA, S. J., Sôbre uma curiosa anomalia em uma larva de *Culex (C.) nigripalpus* Theobald, 1901 *(Diptera, Culicidae)*, **343**
Oncocephalus Mazzai n. sp., **342**
Opiliões coligidos no Tapirapés, **435**
Oranellius n. g., **440**
Oranellius brasiliensis n. sp., **441**
Otiodactylus signatus, **337**

Oxigênio em altas pressões, Tratamento das gangrenas gazosas experimentais pelo, **1**
Oxigênio em estado nascente, Tratamento das gangrenas gazosas experimentais, **1**
Oxigênio, Influência sôbre a duração dos reflexos, **298**
Oxigênio sob pressão, Influência sôbre o *Clostridium welchii*, **145**
Ozorio de Almeida, A., Goulart, M. D., Ielpo, M. & Pinto, A. V., Estudo da ação inhibidora do suco de *Solanum lycopersicum* sôbre a germinação de sementes e crescimento de plantas, **345**
Ozorio de Almeida, A., Goulart, M. D., Ielpo, M. & Pinto, A. V., Estudo da ação do suco de fruto do *Solanum lycopersicum* sôbre células animais, **355**
Ozorio de Almeida, A. & Pacheco, G., Ensaios de tratamento das gangrenas gazosas experimentais pelo oxigênio em altas pressões e pelo oxigênio em estado nascente, **1**
Ozorio de Almeida, M., Moussatché, H. & Vianna Dias, M., Sur les réflexes de la queue du lézard, **19**
Ozorio de Almeida, M., Moussatché, H. & Vianna Dias, M., Action de la température sur le maintien et la résistance des réflexes de la préparation moelle-train postérieur de la grenouille, **95**
Ozorio de Almeida, M., Moussatché, H. & Vianna Dias, M., Recherches sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière. Premier Mémoire — Introduction et technique, **165**
Ozorio de Almeida, M., Moussatché, H. & Vianna Dias, M., Recherches sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière. Mémoire deuxième — Étude physiologique du phénomène chez le *Leptodactylus ocellatus* des environs de Rio de Janeiro, **179**
Ozorio de Almeida, M., Moussatché, H. & Vianna Dias, M., Primeiras observações sôbre os ataques epileptiformes anômalos do *Leptodactylus ocellatus* do Rio de Janeiro, **203**
Ozorio de Almeida, M., Moussatché, H. & Vianna Dias, M., Influence de l'anhydride carbonique et de l'oxygène en pourcentages variables sur les courbes de durées des réflexes de la préparation moelle isolée-train postérieur de la grenouille en fonction de la température, **293**
Ozorio de Almeida, M., Moussatché, H. & Vianna Dias, M., Recherches sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière (Cryoépilepsie). Mémoire troisième. Étude de l'influence de qualques facteurs sur les caractères du phenomène chez le *Leptodactylus ocellatus* des environs de Rio de Janeiro, **393**

Pacheco, G. & Costa, G. A., Mentólise bacteriana, **87**
Pacheco, G. & Costa, G. A., Influência do oxigênio sob pressão sôbre o *Clostridium welchii*, **145**
Pacheco, G. & Costa, G. A., Influência da sulfanilamida sôbre a imunidade, **321**
Pacheco, G. & Moussatché, I., Sensibilidade do pinto ao virus rábico, **417**
Pacheco, G. & Renault, L., Conservação de culturas bacterianas, **415**
Pacheco, G. & Suárez Morales, O., Variaciones en la accion fotodinámica del azul de metileno sobre el bacteriófago, **443**
Pacheco, G., ver Ozorio de Almeida, A., **1**
Pará, M., ver Villela, E., **449**
Pará, Acantocéfalos do, **223**
Parachor, dos ácidos da série chaulmúgrica e seus derivados etílicos, **75**
Paranfistomídeo, Novo trematódeo parasito de rã, **121**
Paraphrissopoda chrysostoma (Wied., 1830), **219**
Parasita de anofelinos, Flagelado, **311**
Parasito de ariranha, *Nematoda, Ascaroidea*, **267**
Parasito de *Dasypus novemcinctus* L., **235**
Parasito de morcego *(Hemiptera, Cimicidae)*, **41**
Parasito de peixe, Novo trematódeo, **249**
Parasito de rã, Novo trematódeo paranfistomídeo, **121**
Parasito do cão, *Mallophaga*, **47**
Parasitos de lacertídeos, Filarídeos, **383**
Parasitos de rãs, Trematódeos, **31**
Peixe, Novo trematódeo parasito de, **249**
Pele do cão, Alterações no Kala Azar sul americano, **81**
Peripatus (Peripatus) heloisae n. sp., **447**
Phlebotomus fischeri Pinto, 1926, Dados bionômicos sôbre o, **423**
Phlebotomus whitmani Antunes & Coutinho, 1939, Sôbre a astenobiose do, **305**
Pigmentos, Determinação do coeficiente de absorção dos, **325**
Pimenta de Mello, R., Retículo-endoteliose aleucêmica e corpos de Auer, **161**
Pinto, A. V., ver Ozorio de Almeida, A. *et al*, **345, 355**
Pinto, Sensibilidade ao virus rábico, **417**
Piratuba n. g., **384**
Piratuba digiticauda n. sp., **384**
Plagiorchis lenti, n. sp., **32**
Plantas, Ação de *Solanum lycopersicum* sôbre o crescimento de, **345**
Plasmodium juxtanucleare n. sp., novo hematozoário da galinha, **231**
Poecilaemula albosigillata n. sp., **436**
Poecilaemula smaragdula n. sp., **437**
Porto, A. ver Martins, T. *et al.*, **241**
Princípio anti-anêmico do fígado, "Test" para avaliação da atividade biológica do, **329**
Prioninae, Coleoptera, **369**
Protídeos totais, do sangue do crustáceo *Uca maracoani*, **69**
Psychodidae, Diptera, **305, 423**

Quadrigyrus brasiliensis n. sp., **59**

Rã, Convulsões medulares da, **301**
Rã, Preparação medula isolada - trem posterior e reflexos, **293**
Rã, Reflexos da preparação medula - trem posterior da, **95**
Rá, Trematódeo paranfistomídeo parasito de, **121**

Rãs, Alguns trematódeos parasitos de, **31**
Rábico, Sensibilidade do pinto ao virus, **417**
Ravinia belfordi (Prado & Fonseca, 1932), **221**
Reduviideos da subfamília *Stenopodinae*, **337**
Reflexos, Ação da temperatura sôbre a manutenção e resistência dos, **95**
Reflexos, Curvas de duração em função da temperatura, **293**
Reflexos da cauda do lagarto, **19**
Refração molecular específica, dos ácidos da série chaulmúgrica e seus derivados etílicos, **75**
RENAULT, L., ver PACHECO, G., **415**
Resfriamento brusco da medula espinhal, Ataque epileptiforme pelo, **165, 179, 393**
Reticulo-endoteliose aleucêmica e corpos de Auer, **161**
Revista Brasileira de Biologia (editorial), **111**
RIBEIRO, D. J., Contribuição para o conhecimento da fauna helmintológica de Minas Gerais. *Eurytrema minensis* n. sp., parasito de *Dasypus novemcinctus* L., **235**
ROCHA, A., ver MAGALHÃES, O., **279**

SALOMÉ PEREIRA, R., Novo método para a determinação do ferro sérico, **271**
Sangue de cães, Taxa de amônia do, **253**
Sangue, Determinação do ácido lático no, **63**
Sangue do crustáceo *Uca maracoani*, **69, 387**
Sangue, Glutation, **431**
Sarcodexia Towns., 1892, **218**
Sarcophagidae, Diptera, Aparelho genital feminino dos, **215**
SEABRA, C. A. C., Sôbre um novo *Stictosomus* (*Anacanthus*) Serville, 1832 (*Col., Prioninae*), **369**
Sementes, Ação de *Solanum lycopersicum* sôbre a germinação das, **345**
Sensibilidade do pinto ao virus rábico, **417**
Solanum lycopersicum, Ação do suco do fruto sôbre celulas animais, **355**
Solanum lycopersicum sôbre germinação e crescimento, Ação inhibidora do suco de, **345**
Sphaerocysta angulata n. sp., **373**
Stenopodinae, **337**
Stictosomus (Anacanthus) espiritosantensis n. sp., **369**
SUÁREZ MORALES, O., Accion fotodinámica de los colorantes azules sobre el bacteriófago, **11**
SUAREZ MORALES, O., ver PACHECO, G., **443**
Sulfanilamida, Influência sôbre a imunidade, **321**

TABORDA, A. R. & TABORDA, L. C., Da relação entre o corante dos venenos de cobra e sua fluorescência (Nota prévia), **379**
TABORDA, L. C., ver TABORDA, A. R., **379**
Tapirapés, Opiliões coligidos por A. L. Carvalho no, **435**
Teleonemia inornata n. sp., **377**
Teleonemia simillima n. sp., **376**
Temperatura, Ação sôbre a manutenção e resistência dos reflexos, **95**
Temperatura, Ação sôbre as curvas de duração dos reflexos, **293**
"Test" para avaliação do princípio anti-anêmico do fígado, **329**
Tifo exantemático do Brasil, em Minas Gerais, **279**
Tingitídeos da América do Sul, Quatro novos, **373**
Tocoferois (Vitamina E), Sôbre a determinação fotométrica dos, **285**
Tratamento das gangrenas gazosas experimentais pelo exigênio, **1**
TRAVASSOS, L., Sôbre o *Lyperosomum rudectum* Braun, 1901. Um equivoco na descrição dêste parasito, **83**
TRAVASSOS, L., *Eurytrema ellipticum* n. sp. (*Trematoda, Dicrocoeliidae*), **201**
TRAVASSOS, L. & MAY, E., Um novo *Adelocephalidae* Burmeister, 1878, **117**
Trematoda, Dicrocoeliidae, **201**
Trematódeo paranfistomídeo, Novo parasito de rã, **121**
Trematódeo parasito de peixe do rio Miranda, **249**
Trematódeos parasitos de rãs, **31**
Trypanosomidae, Mastigophora, **311**

Uca maracoani, Bioquímica do sangue do crustáceo, **69, 387**
Udamopyga neivai Lopes, 1940, **219**
UNINSKI, H., ver KOPROWSKI, H., **253**

VALLE, J. R., ver MARTINS, T. *et al.*, **241**
Van Slyke, Modificação do aparelho de, **365**
Venenos de cobra e sua fluorescência, Corante dos, **379**
VERSIANI, V. & GOMES, B. F., Sôbre um novo hematozoário da galinha — *Plasmodium juxtanucleare* n. sp. (Nota prévia), **231**
VIANNA DIAS, M., ver MOUSSATCHÉ, H., **457**
VIANNA DIAS, M., ver OZORIO DE ALMEIDA, M. *et al.*, **19, 95, 165, 179, 203, 293, 393**
VILLELA, E. & PARÁ, M. Histoplasmose em criança no Estado de Minas Gerais, **449**
VILLELA, G. G., Sôbre a determinação fotométrica dos tocoferois (vitamina E), **285**
VILLELA, G. G. & MELLO, M. I., Um novo "test" para ávaliação da atividade biológica do princípio anti-anêmico do fígado, **329**
VILLELA, G. G. & MELLO, M. I., Ação dos extratos anti-anêmicos do fígado sôbre o glutation do sangue, **431**
VILLELA, G. G. & OLIVEIRA, L. P. H., Bioquímica do sangue do crustáceo *Uca maracoani*. I. Cálcio, fósforo e protídeos totais, **69**
VILLELA, G. G. & OLIVEIRA, L. P. H., Bioquímica do sangue do crustáceo *Uca maracoani*. II. Nitrogênio total e não protídico, cálcio dialisavel, colesterol e índice de côr, **387**
Virus rábico, Sensibilidade do pinto ao, **417**
Vitamina E, Sôbre a determinação fotométrica da, **285**

WERNECK, F. L., De um estranho parasito do cão (*Insecta, Mallophaga*), **47**
WERNECK, F. L., Os malófagos do boi e do cavalo, **195**
WURMSER, R., Détermination du coefficient d'absorption des pigments dans les cellules, **325**

Zenithoptera Selys, 1882, Uma nova espécie de *Libellulidae* do gênero, **207**
Zenithoptera lanei n. sp., **207**